26 JUN 1958

香 川 大 学 農 学 部

（香 川 県 立 農 科 大 学）

学　術　報　告

第 9 巻　第 1 号（通巻第24号）

目　　次

植 木 邦 和：夜温処理に対する蚕豆の開花結実反応の品種間差異　III　生育並びに結実に及ぼす夜高温の影響……1

吉 良 八 郎：かんがい用貯水池の堆砂に関する研究　V　貯水池における密度流について（その1）……11

内 藤 中 人
小 島 義 之：オリーブ炭疽病菌の2―クロロフエノキシ酢酸或いは2―メチルフエノキシ酢酸添加培養による抗菌性物質生成について……18

星 川 玄 児：キレート試薬の土壌肥料分析への応用　I　EDTA試薬による過燐酸石灰中の燐酸の定量法について……26

川村信一郎
福 場 博 保：豆類の澱粉の研究　II　粘度（英文）……38

1 9 5 7 年　7 月

香 川 大 学 農 学 部

香川県木田郡三木町

17 NO. 195

香川大学農学部(香川県立農科大学)学術報告

第9巻 第1号(通巻第24号)

1957年7月発行

この学術報告は本学部の各研究室の業績を発表するために発行するもので，国内国外の関係諸機関と交換を行う．1年度につき1巻とする．第1巻は「香川県立農業専門学校研究報告」として1949—50年に3号発行された．第2—7巻は「香川県立農科大学学術報告」として年3回ずつ発行された．この度国立移管に伴い誌名を変更し，巻号数は連続させた．交換に関しては香川県木田郡三木町香川大学農学部 科学研究委員会あてに照会されたい．

Technical Bulletin of Faculty of Agriculture, Kagawa University (Kagawa Agricultural College)

(Formerly Technical Bulletin of Kagawa Agricultural College)

Vol. 9, No.1 (Serial No. 24) (July, 1957)

This Technical Bulletin is published by Faculty of Agriculture, Kagawa University (Kagawa Agricultural College) for exchange with publications of the agricultural and other organizations of the world. This Technical Bulletin contains contributions from the laboratories of agronomy, horticulture, and agricultural chemistry. Each of the former volumes consists of three numbers, beginning with vol. 1 (1949-50). Correspondence concerning the exchange of publications should be directed to Editor, Technical Bulletin, Faculty of Agriculture, Kagawa University, Mikityô, Kagawa-ken, Japan.

夜温処理に対する蚕豆の開花結実反応の品種間差異

Ⅲ 生育並びに結実に及ぼす夜高温の影響

植 木 邦 和

The varietal difference in the response of flowering and fruiting to the night temperature in broad bean.

Ⅲ. Influence of high night temperature on the growth and fruiting.

Kunikazu UEKI (University Farm)

(Recived April 30, 1957)

Ⅰ 緒 言

筆者は，作物の生育と変温との関係を明確にすることは，農業立地並びに育種上極めて重要であるとの見地より，1952年以降，蚕豆について，夜温の作物に及ぼす影響に関する一聯の研究(9-11)を遂行し，花芽分化，開花並びに登熟に対する高夜温の影響が，蚕豆の生育過程の差異，開花期の早晩並びに結実日数の長短等により異ることを明らかにしたが，本報は，その1部で，夜間の高温が，生長，開花並びに結実に如何なる影響を及ぼすかを究明したものである.

夜間の高温は，蚕豆の栄養生長並びに生殖生長に顕著な影響を及ぼすが，その影響の仕方は，夫々の品種の処理時期の遅速並びに粒の大小によつても反応を異にする．これらの事項は，蚕豆の地理的分布に関する研究並びに採種上興味ある問題と考えられるので，茲に，その大要を簡単に報告する次第である.

本稿を草するに当り，懇切なる教示を賜つた恩師香川冬夫博士並びに京大教授赤藤克己博士に対し，また，実験遂行上多大の便宜を与えられた本学農学部長黒上泰治博士並びに農場長野田愛三教授に対し，厚く御礼申上げると共に，実験結果の取まとめに協力された井川正美助手に感謝する．なお，本研究は，文部省科学研究費による業績の一部である．記して，謝意を表する次第である.

Ⅱ 実験材料及び実験方法

実験方法は，Table 1に示す如くである.

Table 1. Date and duration of treatment changing the night temperature.

Experimental plots	Varieties	Treatment			
		Date	Begun	Ended	Duration
A	Sizuoka-wase	Ⅰ	25/Ⅺ	30/Ⅰ	67 Days
		Ⅱ	8/Ⅻ	6/Ⅱ	61
		Ⅲ	20/Ⅻ	10/Ⅱ	53
	Nagasaya-soramame	Ⅰ	28/Ⅺ	13/Ⅱ	78
		Ⅱ	13/Ⅻ	18/Ⅱ	68
		Ⅲ	26/Ⅻ	25/Ⅱ	62
	Sanuki-nagasaya	Ⅰ	1/Ⅻ	5/Ⅲ	96
		Ⅱ	19/Ⅻ	8/Ⅲ	81
		Ⅲ	9/Ⅰ	12/Ⅲ	64
B	Yamato-soramame	Ⅳ	1/Ⅳ	30/Ⅴ	60
	Issun-soramame		1/Ⅳ	31/Ⅴ	61
	Sanuki-nagasaya		1/Ⅳ	31/Ⅴ	61

Note) A : High night temperature before flowering
B : 〃 〃 〃 after flowering
I : 〃 〃 〃 from germination to flowering
II : 〃 〃 〃 〃 flower bud differentiation to flowering
III : 〃 〃 〃 〃 flower bud development to flowering
IV : 〃 〃 〃 〃 flowering to maturing
Each plot comprises 3 plots, in each of which 2 plants are planted.
Controls are set up for each plot.

(A)の開花前高夜温区においては，夜間の高温が，品種の早，中，晩及び生育過程の違いによつて,生長,開花に如何なる影響を及ぼすかをみんとしたもので，Table 2の如き特性を有する早，中，晩の3品種を選び，夫々(I)発芽期，(II)花芽分化期及び(III)花芽発育期に処理を開始し，開花まで処理を継続したものである．(B)の開花後高夜温区においては，夜間の高温が，主として，品種の結実期間の長短，粒の大小の違いによつて，結実に如何なる影響を及ぼすかをみんとしたもので，Table 2の如く，開花期を略同じくするが，結実日数並びに粒の大いさを異にする3品種を選び，4月1日より一斉に処理を開始し，登熟完了まで約2ケ月間処理を行つたものである．

Table 2. Characters cf varieties and the items observed.

Experimental plots	Varieties	Characters of varieties			Items observed
		Earliness or lateness	Duration of fruiting period	Size of seeds	
A	Sizuoka-wase	early	——	——	Culm length, number of branches, number of leaves, area of leaves, period from germination to flowering, period of flower blooming, number of flowers, order of node where the first pod sets, dry weight
	Nagasaya-soramame	median	——	——	
	Sanuki-nagasaya	late	——	——	
B	Yamato-soramame	〃	short	small	Duration of fruiting period, percentage of pod setting, weight of seeds, number of seeds, size of seeds
	Issun-soramame	〃	median	large	
	Sanuki-nagasaya	〃	long	median	

Note) A : High night temperature before flowering
B : 〃 〃 〃 after flowering

実施に当つては，既報 (10,11) の如く，夜間高温区及び対照区を共に，硝子室内に設置し，前者の高温は電熱線の加熱によつた．

なお．処理期間中の最低気温並びに地温は，Fig. 1に示す如く，処理区は，対照区にくらべて，全期間を通じ平均において,概略7～8°C夫々高かつた

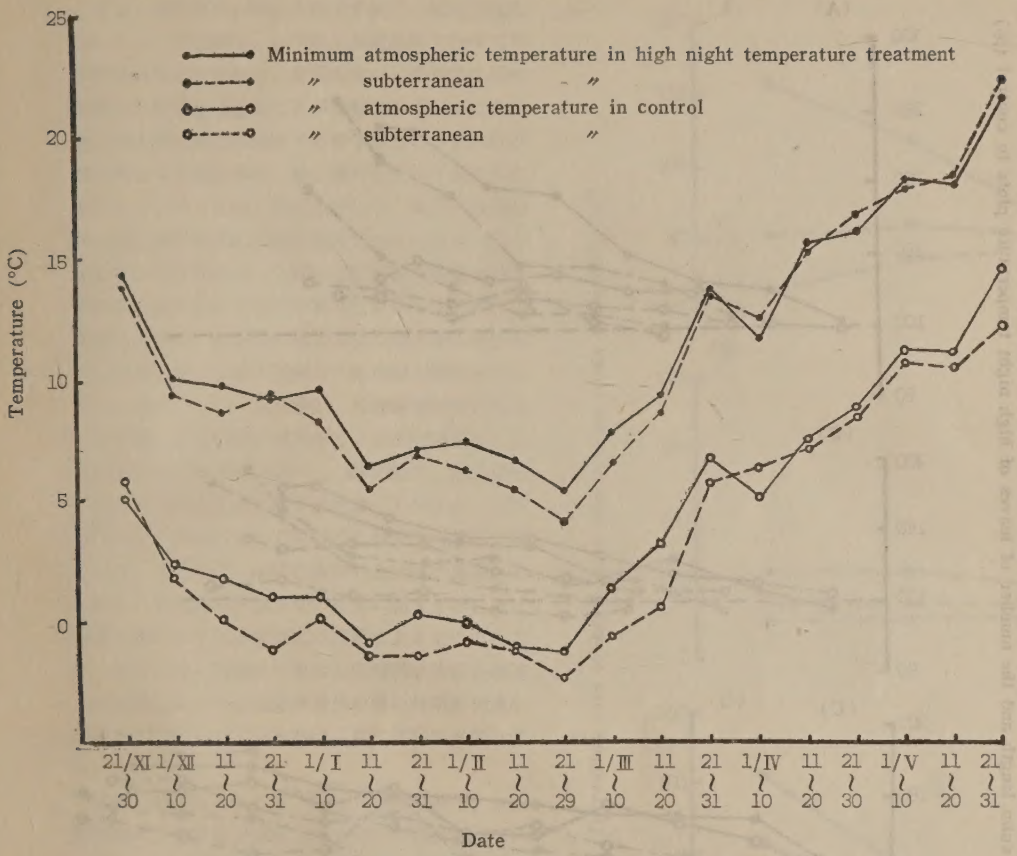
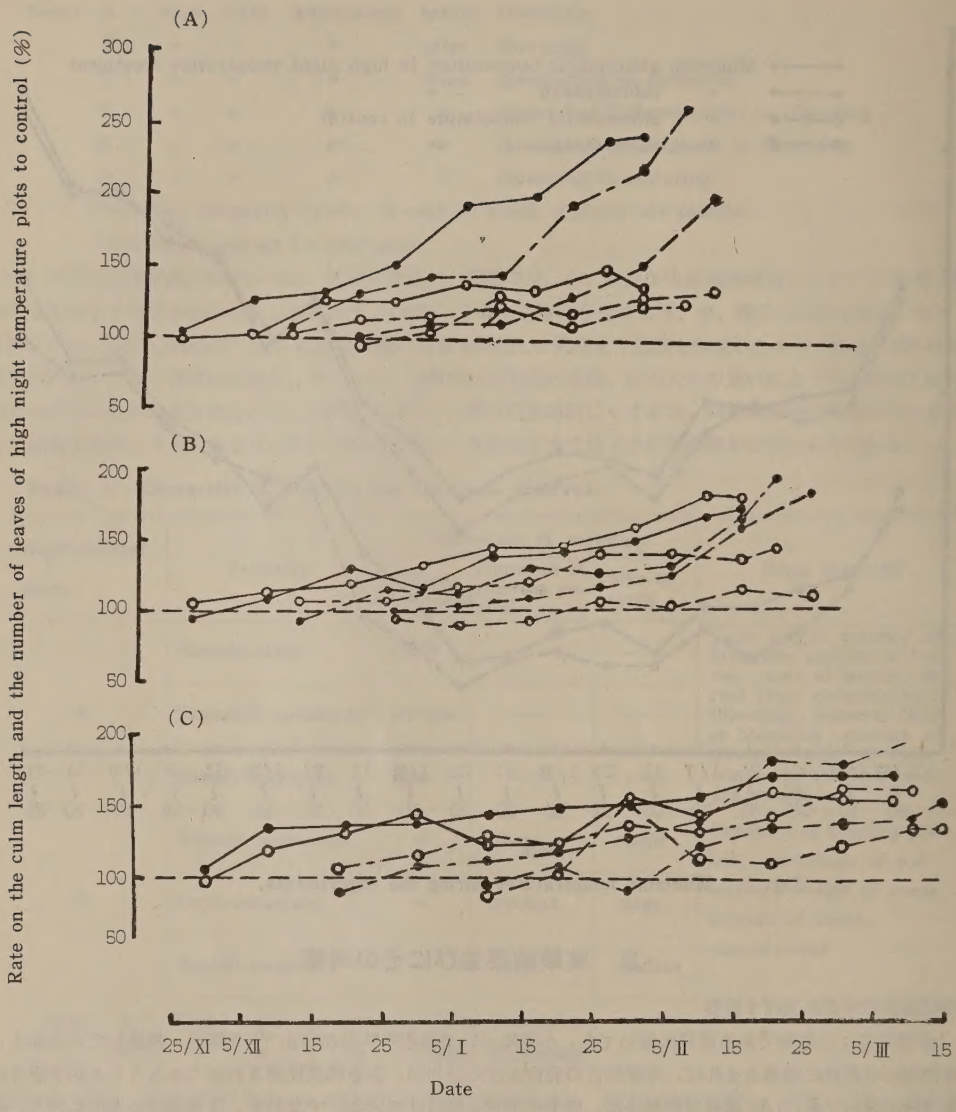


Fig. 1. Minimum temperatures during the experiments.

Ⅲ 実験結果並びにその考察

a. 夜間高温の生育に及ぼす影響

A. 栄養生長：冬作物である蚕豆においても，小麦について盛永[4,5] 及び中山[7] 氏等が，指摘している如く，生育初期に夜高温に遭遇させれば，栄養器官の発育並びに分化が，ある程度促進されるであらうことが予想される．本実験においても，(A) 試験区の結果は，以上の推定を裏付けている．すなわち，生育過程の進展に伴う，茎長及び葉数の伸長度並びに増加率は，Fig. 2に示す如く，処理開始時期の早いもの程，また，早生種程，概してその割合が著しい．但し，夜間高温の品種の早晩性による葉数に対する促進的な影響は，茎長に関する程，品種間差異は顕著でない．それは，両形質の特質に基く差異によるものと考えられる．



Note)

(A) Sizuoka-wase　(B) Nagasaya-soramame　(C) Sanuki-nagasaya

●——● Culm length (Date of treatment Ⅰ)

●-·-·-● 〃 (〃 Ⅱ)

●- - - -● 〃 (〃 Ⅲ)

○——○ Number of leaves (〃 Ⅰ)

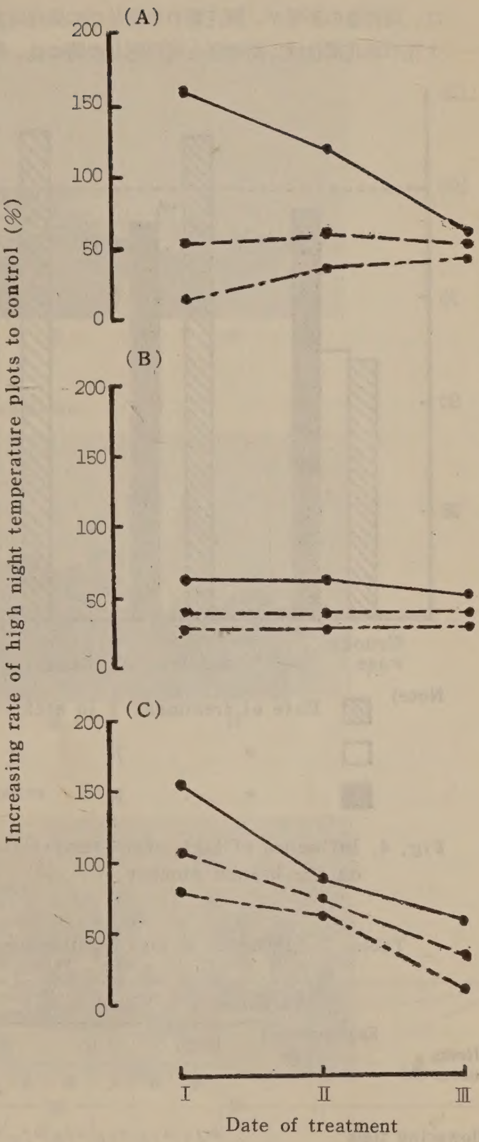
○-·-·-○ 〃 (〃 Ⅱ)

○- - - -○ 〃 (〃 Ⅲ)

Fig. 2. Influence of high night temperature on the culm length and the number of leaves.

また，風乾重は，Fig. 3に示す如く，個体全重については，処理区は，いずれも対照区にくらべて5割前後の増大をきたし，夜間高温が，蚕豆の生長に促進的な影響を与えることが推察されるが，これを地上部と地下部とに分けて考察すると，いずれの品種に関しても増加率は，地上部の方が地下部よりも著しい．このことは，調査に際して，地下部の採取が，地上部程精密に行われ難かつた点に関係することもないではないが，高温の影響が地下部より地上部に強くあらわれるものと考えしめる．この場合，興味ある点は，中生種の地下部及び地上部の増加率が，処理時期にあまり関係なく略相似た関係を示しているのに反して，早生種が，処理時期が早い程地下部と地上部との開きが大きく，処理時期がおくれるに従つてその差が減少し，晩生種が，処理開始の早い場合地上部及び地下部共著しく増大し，処理時期のおくれるにつれて平行的に減少している点である．これらは，品種の本質的な性質の差異，すなわち，地上部及び地下部の生長に関する早，中，晩性品種の有する温度反応の差異によるものであるか，あるいは，品種の早晩性と処理開始時期の遅速との関連において起る肥料養分の量の時期的相違に関係して起るものであるかは，更に究明を必要とする．

次に，分枝数になると，Fig. 4に示す如く，中，晩生種が，発芽時処理において幾分の増加をみている以外は，いずれの場合も，処理区は対照区より減少し，かつ，早，中晩生の品種に対する影響は必ずしも同じではない．一般に，茎長が旺盛な伸長を開始すると，分枝数の増加が停頓する現象は，多くの作物に共通にみとめられるところであつて，Fig. 2の茎長の伸長度，及びFig. 5の全葉面積の増加を併せ考察すれば，この場合，夜高温により一種の徒長現象が生じたものと考えられる．しかして，その程度は，処理開始の遅速，品種の早晩性並びに形質の特質等によつて，種々異なり複雑な様相を示すに至つたものであらう．



Note) (A) : Sizuoka-wase
(B) : Nagasaya-soramame
(C) : Sanuki-nagasaya
Top　Root　Top+Root

Fig. 3. Influence of high night temperature on the dry weight.

B. 生殖生長：盛永氏等[4,5,6]が，小麦において指摘している通り，栄養生長が促進されれば，その後に引続く生殖生長にも当然促進的な影響のあらわれることが期待される．Table 3は，この点に関する(A)試験区の調査結果を取まとめて示したものであり，Fig. 6は，各品種の処理時期別の生育状態を示したものである共に，生育に相当の開きのあることがみとめられる．Table 3によれば，開花日数は，3品種共処理時期の早い，また，前報[11]同様，早生種程短縮率が大であり，開花期間日数は，3品種共高夜温により延長しているが，その程度は，概して処理の早い程顕著である．開花数

は，高夜温の影響が，開花期の早晩並びに処理時期の遅速により異り，特に，晩生種の増加の割合が著しい．第1花の着花節位は，処理区と対照区との間には，明確な差異がみとめられない．

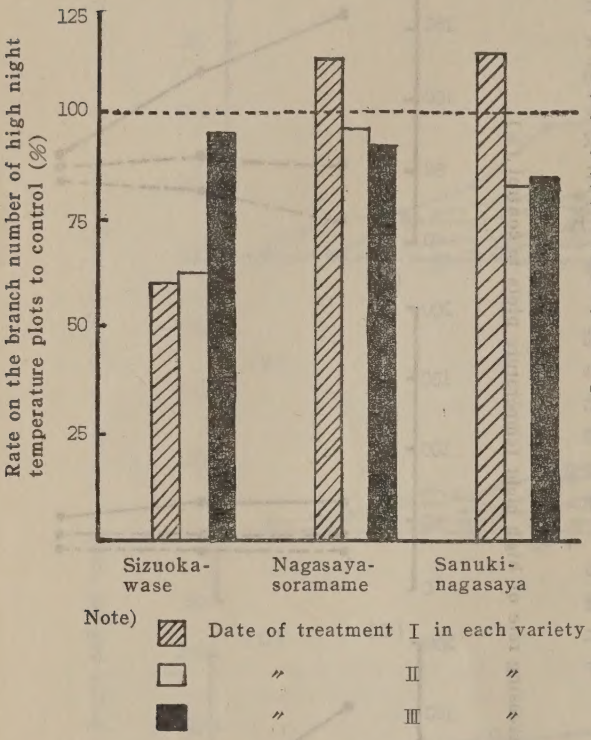


Fig. 4. Influence of high night temperature on the branch number.

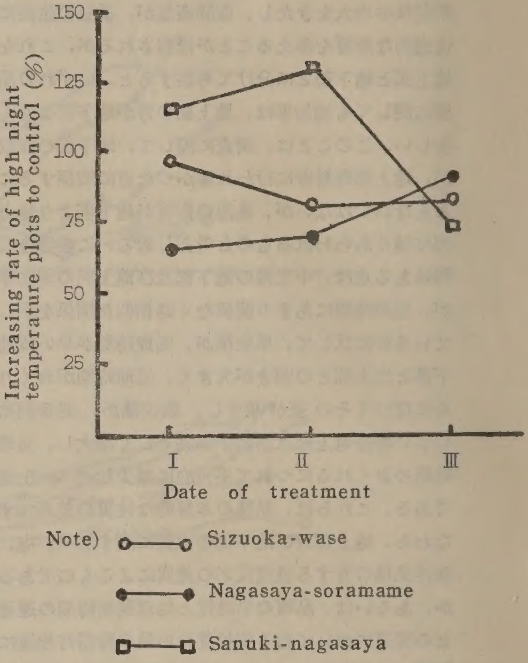


Fig. 5. Influence of high night temperature on the area of leaves.

Table 3. Influence of high night temperature on the flowering.

Items observed \ Expermental plots \ Varieties	Sizuokawase						Nagasayaeoramame						Sanukinagasaya					
	I		II		III		I		II		III		I		II		III	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Flowering tims	31/I	14/III	6/II	14/III	11/II	14/III	14/II	20/III	19/II	20/III	26/II	20/III	6/III	2/IV	9/III	2/IV	13/III	/IV
Period from germination to flowering (Days)	90	133	96	133	101	133	104	139	109	139	116	139	125	152	128	152	132	152
Reductive ratio of period from germination to flowering (%)	32.3	—	27.8	—	24.1	—	28.1	—	21.6	—	16.5	—	17.8	—	15.8	—	13.2	—
Period of flower blooming (Days)	71	37	70	36	67	35	64	32	60	33	56	32	47	23	45	22	40	22
Number of flower	27.0	27.0	29.3	30.0	20.2	28.7	65.7	41.2	58.0	43.5	60.5	46.0	59.3	27.5	68.3	29.0	48.2	27.8
(Relative number of flowers)	(100)	(100)	(98)	(100)	(70)	(100)	(159)	(100)	(133)	(100)	(132)	(100)	(216)	(100)	(236)	(100)	(173)	(100)
Order of node where the first pod sets	7.2	7.2	7.5	7.0	6.6	7.0	7.0	7.5	7.1	8.0	7.3	7.0	8.6	8.0	8.1	8.0	8.8	8.0

Note) A : High night temperature B : Control

Sizuokawase

Ⅰ Ⅱ Ⅲ Ⅳ

Nagasayasoramame

Ⅰ Ⅱ Ⅲ Ⅳ

Sanukinagasaya

Ⅰ Ⅱ Ⅲ Ⅳ

Note) Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ : High night temperature treatment in different date
Ⅳ : Control
Photographed at the time when the high night temperature treatment of Ⅰ (photo. at the extreme left) was ended.

Fig. 6. Growth of broad bean in different date of treatment.

b. 夜間高温の結実に及ぼす影響

試験区 (B) においては，(A) の夜高温の生長に及ぼす影響をみたのとは異り，開花後夜間高温に遭遇させた場合，蚕豆の結実現象に，如何なる影響を与えるかをみんとしたものである．調査の結果は，Fig. 7 及び Table 4 に示す如く，各品種共，結実日数の短縮，結莢率の低下及び子実の発育不良をきたしているが，それらの程度は，品

種によつて必ずしも同じではない．すなわち，Fig. 7によれば，結実日数の短縮率は，大和蚕豆，一寸蚕豆，讃岐長莢の順に，概して結実日数の長い品種程短縮率が大きい．このような現象は，前報(11)においても指摘しておいた処であつて，夜高温により成熟が促進されたことによるものと考えられる．また，結莢率も，処理区は対照区より，いずれの品種も低下しているが，これも前報(11)に指摘しておいた如く，夜高温による開花数の増加に比し，結莢数が少い結果によるものであらう．しかして，品種間には，その差は比較的小さいが，結莢率の減少度合は，結実日数の場合と略同様に，結実日数の長い品種程大きい傾向が，うかがわれる．

また，Table 4によれば，子実の発育に関しては，殆んどの場合処理区は対照区よりも不良であり，品種間にも可成の差異がみとめられるが，特に，子実の充実度は，大粒種程，充実の度合が不良である．不良環境に遭遇する場合，大粒種が，小粒種にくらべて充実度の劣ることは，他の作物(2,3,8,12)においても屡々みとめられる処であつて，主として，同化物質の蓄積，転流の多寡あるいは難易の差異に基くものである．(12,14) 本実験においては，夜温は15°C以上を示していることとて，蚕豆の結実にとつては，必ずしも適切な環境であつたとはいい難いことが推察される．

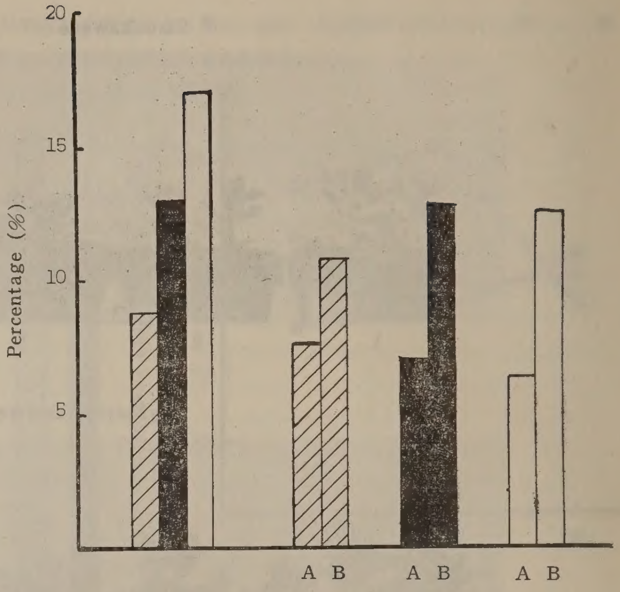


Fig. 7. Influence of high night temperature on the duration of fruiting period and the percentage of pod setting.

Table 4. Influence of high night temperature on the seeds.

Items observed \ Experimental plots \ Varieties	Yamato-soramame			Issun-soramame			Sanuki-nagasaya		
	A	B	$\frac{A}{B}\times 100$	A	B	$\frac{A}{B}\times 100$	A	B	$\frac{A}{B}\times 100$
Weight of seeds (g)	20.9	23.0	81	12.3	21.5	57	15.3	22.5	68
Number of seeds	22.3	22.7	98	6.0	7.7	78	16.7	18.0	93
Number of seeds per pod	3.2	2.2	145	1.4	1.4	100	2.4	3.1	77
Length of seed (mm)	16.2	16.4	99	27.1	28.5	95	17.9	18.0	99
Breadth of seed (mm)	12.4	12.7	98	17.8	21.9	81	14.1	13.8	102
Thickness of seed (mm)	5.9	6.2	85	6.2	6.6	94	6.3	6.8	93

Note) A : High night temperature B : Control

以上の如く，夜間の高温は，生育並びに結実に，共に相当強い影響をあたえるが，その程度は，処理開始期の遅速，品種の本質的な性質並びに形質の特質により，可成の差異があり，全体として相当複雑な様相を呈するに至つたものと考えられる．しかして，これらの事実は，福井氏等[1,2,3]の大豆における場合と同様に，蚕豆の生態分化並びに栽培，育種上重要な意義を有するものと考えられる．この方面の詳細に関しては，将来更に研究を必要とする．

（本研究の要旨は，昭和32年4月4日，農林省農業技術研究所における日本育種学会第11回講演会において発表した．）

Ⅳ 摘 要

1. 本研究は，変温に対する蚕豆品種の生態的特性を究明する目的を以て，開花期，結実日数及び粒の大いさの異る品種を用い，高夜温が，生長，開花並びに結実に及ぼす影響について調査したものである．
2. 生育に及ぼす高夜温の影響は，生長に関しては，茎長，葉数及び風乾重の増加，分枝数の増減並びに葉面積の拡大等に，開花に関しては，開花日数の短縮，開花期間日数の延長及び開花数の増減等にあらわれ，それらの変化の割合は，品種の早晩性並びに処理時期の遅速により必ずしも同じでない．
3. 結実に及ぼす高夜温の影響は，結実日数の短縮並びに結莢率の低下等にあらわれ，それらの変化の割合は，結実日数の長い品種程著しい．高夜温は，また，子実の発育にも影響を及ぼし，その程度は，品種における結実日数の長短並びに粒の大小により異つている．
4. 生育並びに結実に及ぼす高夜温の影響並びにそれらの品種間差異を解明することは，蚕豆品種の地理的分布を決定する上において，また，品種の選定その他育種上極めて重要な意義をもつものである．

引 用 文 献

1. 福井重郎，荒井正雄：日本に於ける大豆品種の生態学的研究（第1報）開花日数と結実日数による品種の分類とその地理的分布について，育種学雑，**1**，27〜39 (1951)．
2. ———，鎗水 寿：開花後の短日が大豆の登熟に及ぼす影響の品種間差異，育種学雑，**1**，86〜90 (1951)．
3. ———，———：開花後の温度が大豆の登熟に及ぼす影響の品種間差異，育種学雑，**6**，192〜196 (1956)．
4. 盛永俊太郎，栗山英雄：作物と温度及光 Ⅱ，夜温の高低並に催花の春播性秋播性小麦の発育に及ぼす影響，農及園，**14**，971〜977 (1939)．
5. ———，中山治彦：作物の発育に及ぼす変温の影響，農試研究年報（昭和27年），(1952)．
6. 中山治彦：数種の作物の発育に及ぼす夜温の影響（予報），日作紀，**20**，59〜62 (1951)．
7. ———，沢村浩：小麦の発育に及ぼす高夜温の影響，日作紀，**23**，178〜182 (1955)．
8. 佐々木正三郎，沢田英吉，渡辺斉：菜豆品種の生態的分化に関する研究，文部省科学試験研究報告，No. **17**，39〜44 (1953)．
9. 植木邦和：夜温処理に対する蚕豆の開花結実反応（予報），香川農大学報，**5**，243〜246 (1954)．
10. ———：夜温処理に対する蚕豆の開花結実反応の品種間差異 Ⅰ，夜温の差に対する二三の早晩生品種の感応度の差異について，香川農大学報，**7**，1〜5 (1955)．
11. ———：夜温処理に対する蚕豆の開花結実反応の品種間差異 Ⅱ，夜温の差が蚕豆品種の花芽分化並びに登熟に及ぼす影響，香川大農学報，**8**，19〜24 (1956)．
12. WENT, F. W.: Plant growth under controlled conditions Ⅱ, Thermoperiodicity in growth and fruiting of the tomato, *Amer. Jour. Bot.*, **31**, 135〜150 (1944).
13. 山本健吾：水稲の成熟現象に関する研究Ⅱ，夜温の高低と水稲子実の登熟，農及園，**29**，1303〜1304 (1954)．
14. ———：水稲の成熟現象に関する研究Ⅲ，夜温の高低と登熟期間に於ける呼吸量及び炭水化物の変化，農及園，**29**，1425〜1427 (1954)．

Résumé

1. The difference in the influence of high night temperature on the growth and fruiting of the varieties having the difference in the flowering and fruiting periods and also in the size of seeds were studied.
2. The influence of high night temperature on the growth was shown in the increase of culm length, number of leaves and the dry weight of plant.

   The number of branches increased in some cases and decreased in the others. The size of leaves enlarged, and the reduction of the length of period from germination to flowering and the prolongation of the periods of flower blooming occurred.

   The number of flowers decreased in some cases and increased in the others. But all influences above stated were shown in different manner according to the earliness or lateness of the varieties and to the date of treatments given.
3. The influences of high night temperature on the fruiting were shown in the reduction of the duration of fruiting period and in the decrease of the percentage of pod setting. The influences were remakably shown in the varieties having long fruiting period. The growth rate of seeds was changed, the modes of which were different according to the varieties having the difference in the duration of fruiting period and the size of seeds.
4. Above mentioned facts may be of use to explain the distribution of broad bean varieties, and to select the suitable varieties for any locality, as well as to the breeding of broad bean.

かんがい用貯水池の堆砂に関する研究

V 貯水池における密度流について（その1）

吉　良　八　郎

Studies on the sedimentation in irrigational reservoirs.

V. On the density current in reservoirs (1).

Hachiro KIRA (Laboratory of Agricultural Engineering)

(Received April 27, 1957)

I 緒　　言

かんがい水源としての人工貯水池は，陸水形態から天然湖沼と姉妹関係にあるが，貯水池の性格は一般に変化に富み，湖沼とは区別して取扱う必要がある．特にその水理，水質特性を把握するためには，在来の湖沼学(1)(2)が教えるところでは不充分であり，流入水の影響やこれに関連した密度流に関する詳細な研究が必要となつてくる．すなわち一般に貯水容量の大なる湖沼では，その流入河川の影響はごく一部分に限られて降雨による出水の影響を強く受けないが，貯水容量のあまり大きくない人工貯水池では，その影響を強く受けることになり，河川はもとより湖沼などとは異つた水理，水質特性を示すことになる．たとえば溷濁質輸送の場合を考えると，「河川においては流水が浮遊沈澱物を運ぶが，貯水池においては逆に浮遊沈澱物によつて水が動く」という KNAPP, BELL(3) の表現のごとく，河川における乱流交換の代りに貯水池内の流動は，専ら密度勾配によつて定まり，密度流の果す役割が重要になつてくる．この意味から筆者は，かんがい用貯水池を対象にその沈澱堆積機構に重要な関連をもつ密度流問題をとりあげ，以下若干実験並びに調査を行わんとするものである．なおこの種貯水池における密度流問題が論議されるようになつたのはごく最近のことであり，わが国においてはまだ未開拓な面と考えられるが，最近上水源貯水池を対象に考究した合田の論文(4)には，この点有意義な解析がなされており，本研究に負うところ大なることを付記したい．

II 貯水池における密度流の問題

一般に密度流 (density current) とは，流体実質の密度差によつておこる流動を意味し，ある流体内において底層流，上層流あるいは内部流（中層流）として流れる重力流 (gravity flow) であると解されているが，地質学者や海洋学者は，この密度流のうちで清澄な水の底部に沿つた sedimentを含んだ流れを特に溷濁流 (turbidity current) とも呼んでいる．

これら密度流の問題が，河口部（感潮河川）における河海水混合による水理特性，あるいは貯水池内における流動を考究するにあたつて，上水やかんがい水質，汚染，沈澱堆積現象などの技術的問題と関連して熱心に論議されるようになつたのはごく最近のことである．

河口部でみられる密度流(5)(6)(7)(8)では，河水と海水の密度差が明瞭であり，これは主として溶解物質（塩分）量の差によるものであるが，貯水池（あるいは湖沼）でみられる密度流では，主として水塊の温度差，浮遊物質あるいは溶解物質量の差が主体となることもあり，この場合一般に密度差が不安定とされている．すなわち湖沼にて春秋2期におこる循環流は大気の密度流に類似しており，一般に上下密度差の小さい湖沼において，その表層水温の上下によつておこる一種の密度流であるが，人工貯水池の河川流入点付近においては，感潮河川の河口部でおこる顕著な密度流と類似した流動状態を示すことがある．たとえば河川からの流入水と池水との間に顕著な温度差あるいは浮遊物質並びに溶解物質濃度差があると，流入時にある程度の交換混合作用があつても，その影響は全体におよぶにはいたらず，貯水池内の流動は専ら密度勾配によつて定まり，いわゆる成層流 (stratified flow) や潜行密度流 (submerged den-

sity current) が発達することになる(4)．このさい流入した高濁高速水が潜行溷濁密度流の形で大して稀釈もされず，しかも浮遊物質の沈澱効果も充分でないまま下流側ダムから放出されることもありうるわけで，アメリカのLake Mead(9) やわが国でも千苅貯水池,(10) 岩屋戸貯水池(11) について実例が報告されている．

このように人工貯水池における密度流機構は，貯水池の環境，形態，C/I比（C：貯水容量，I：平均流入量を意味し，筆者は貯水率 $Rc = \frac{100C}{I}$(%) として平均年堆砂率推定式に導入した(12)）あるいは密度差などによりきわめて複雑となつてくる．

貯水池における密度流に関する従来の研究成果から，その概要を示すと，密度流の定義について，アメリカのNBSは，「Density currentとは境界面での乱流交換によつて個性を失うことなく，流体の上，下または中を通り抜け媒介流体と混合可能であり乍ら，しかもその密度が媒介流体とは異なるような流体の流動をいい，その密度差は温度，塩分含量およびシルト含量の差にもとづく」と定義している(4)(14)．またBELL(4)(13) は「密度の最も大なる部分が底部に沈み，そこに傾斜があると何らかの外力によつてその流動が阻止されるまで運動を続け，僅かな密度差でも，このような流動を起すから，このような流動を密度流と呼ぶ」と説明しており，その他おなじような説明にBROWN(4)(15)のものがある。

さて貯水池における土砂の沈澱堆積機構について，第１報第１図(12)のように，堆積は一般に(1)Top-set beds 頂部堆積層，(2) Fore-set beds 前面堆積層，(3) Bottom-set beds 底部堆積層，(4) Densirty-current beds 密度流堆積層なる４カ所で形成されるといわれているが(16)，第４の沈澱堆積層なるdensity-current beds が注目されるようになつたのはごく最近のことである。

いま貯水池の密度流成因についてみると，水理学の分野から，流体自体の物性の差（圧力差，温度差）による定期的なものと，流体中に溶解物や浮遊物が存在するために生ずる見かけの密度による不定期的（強雨後，汚染水放流後のように一時的なもの）なものとが考えられている．すなわち河川から水が貯水池に流入するとき，水路断面積が急増するからその流速は急減するものであるが，前者の場合貯水池水温は一般に４～９月頃において表層水温が暖められ，4°C が最大密度を有するという事実に特長づけられて温度差による正列成層の水温分布をなすものであるが，そこに上流から冷水が流入するときは，温度差にもとづく密度差によりて成層流（一般に底層流となる）としてダム方向に流下する．これら冷水流入による温度差にもとづく潜行密度流の著例として Tennessee 河の Watt Bar ダムやFt．Loudoun 貯水池における結果が報告されている(17)．

次に後者の場合を考えるに，もし貯水池内の貯留水が清澄であり，流入水が強雨後のシルトやコロイド状の溷濁水か，あるいは汚染水であると，第１図のように溷濁物質濃度にもとづく密度差によつて，重力の作用で池床に沿つた底層流として流下し，最下部ダム付近に沈澱堆積していわゆる density-current beds を形成するに至る．このような貯水池縦断面内の大循環の存在を始めて説明したのは KNAPP および BELL(3) であるが，これは流入河水密度が池水密度に比しきわめて大なるときに起りうるもので，清澄池水に流入した溷濁流の厚さが漸増してある限界に達すると，そこに溷濁潜行密度流が形成され，再びその厚さが減少の傾向をたどる．この際清澄池水との接触点付近における混合によつても溷濁流入水と清澄池水との密度差は消失しないから，接触点付近に生ずる潜行流のため清澄水の１部がこの溷濁潜行流に随伴することになり，そのため池面近くに逆向流を生じて，その溷濁流入水との接触部分に図のように流動の停滞した境界帯 (demarcation line, floating debris) を生ずるに至る．このような縦断面内における大型の密度流は，従来の湖沼学で説明されている鉛直面内循環流や吹逆流の場合の逆向流などとは区別さるべきものであり，わが国でも合田(10)が神戸市千苅貯水池において始めてこの種の逆向流と demarcation line の存在を明瞭に確認している。

これら貯水池特有の密度流の相対的変化量や沈澱堆積におよぼす影響は，貯水池の環境形態，河床勾配，流入流出の関係あるいは密度差など多くの因子に支配されるものと考えられ，C/I 比の小さい細長い貯水池において特に発達する水理的特色といえるであろう．この点前川教授(18)の環境別に分類された山池，麓池，野池を対象にその流動状態を観測しているが特に流出率調査(19)(20)や堆砂調査(21)を行つている神内上池（山池）についての検討は続けて報告したい．

さて貯水池における溷濁密度流の沿革過程についてみるとBELL(22)により第２図のように説明されている．すなわち第２図 (a) のように，密度流は先ず貯水池上流側の掃流によるデルタ堆積物付近に始り，その デルタ 上流は流速が減少する．そして池底に沿つた溷濁潜行密度流となり，緩慢な流速で進行し，その先端がダムに突き当ると第２図 (b) のように上向に押し上げられ溷濁流が乱れてくる．この場合もし貯水池が浅い場合には溷濁流が表層水面ま

で上昇しその1部分は余水吐から溢流放出されることになる．しかるに第2図 (c) に示すごとく，一般にそれは静止の沈澱状態にもどり，この溷濁貯水池では，数日ないし数週間にわたり非常に緩慢にその微細浮遊粒子が貯水池中に潜行氾濫するに至る，この沈澱過程の間，密度流が貯水池中層内部に沿つて流動する内部流となる結果，その溷濁水が潜行氾濫した中層以下の貯水密度が増大に至る．

このようにして洪水毎密度流による微細粒子の沈澱堆積が主としてダム付近あるいは貯水池全面にわたつて繰返されて，density-current beds の層理 (stratification) あるいは微層理 (micro-stratification) が形成されるものと考えられるが[21][23]，これら密度流沈澱堆積層の特性については，環境別貯水池について若干検討しているので後述したい．

これら密度流の特性に関しては最近研究が進められているが，先づ密度流の速度をみるに，一般に流入河川より緩慢とされ，Lake Mead[22] において max値として 2 mph でその平均流速は 1 mph より幾分小なる流速が観測されている．しかるに HOWARD[14] によるおなじく Lake Mead の浮遊物濃度差にもとづく密度流観測結果によると，浮遊物質のうち粗粒部分は．流入後すぐ沈澱堆積するが，沈澱しない微細粒子が溷濁密度流を起す主因をなし，この溷濁流の速度は案外に早く 0.19～0.43ft/sec (≒0.058～0.131m/sec≒3.48～7.86m/min) に達し，その溷濁流部分の濁水分析によると，流入溷濁水とよく似た組成であることを認めている．またFRY, CHURCHILLおよびELDER[4]などは Norris ダムの背水である Cherokee湖において塩素イオン投入によるトレーサー実験を行つて，1943年秋の実測で最大の〝rate of travel〟が3.32m/min，平均2.7m/minで，また1944年夏の実測ではさらに早くなり 7～19cm/sec に達したという．あるいは合田[4] は千苅貯水池で浮子，Salt method など用いて実測し，池水の流動流速は季節，場所により相当変動するが，洪水時の溪流量のような異常増大時を除くと，底部密度流や，それに伴う表層の逆向流が特に早く，風がなくても部分的に10m/minの order に達したという．

このように密度流の流速も案外早いことが知れるが，循環期においては流入水温も低いから，池底をはう潜行溷濁密度流とこれに伴う池面逆向流とにより，貯水池縦断面内の大循環が起り，流速も相当早いから池底濁質の洗掘が行われ，これに鉛直面内循環流による濁質の再浮遊が行われることにより濁質が池内全域に拡散され水質が均一化されるに至ることが考えられる。

次に溷濁密度流の特質として，同一性を保持する能力すなわち密度流の安定度 (stability) があげられるが，これには (a)溷濁流の境界面やその上層における安定度 (b)溷濁流自体の安定度があげられるが，前者についてはKEULEGAN, IPPEN および HARLEMAN あるいは LONG[24] その他により考察されているが，後者の面については今日なお REYNOLDS number が Re = 100,000 以上の場合なる底層流では，その流れが如何なる理由で上層部と混合しなくてより安定であるかについて充分な解決がなされておらない感がする．すなわち流体の中流層から底流層に沿つて流入する乱れを防ぐようなあるメカニズムが存在しなくてはならないわけである．

これらの点についてEINSTEIN[25] は浮遊沈澱物濃度が大で特に沈澱物が架固 (flocculate) しているときその底層流は粘性でなく塑性状態を示すことを指摘し，その流れの塑性は REYNOLDS number が大でその底流が混合しない場合ほど顕著であるという．またSHERMAN[9] による Lake Mead における浮遊沈澱物機構の最近の解析では、池底付近で浮遊している浮遊物は単粒子でなく，多数の粒子が架集しており架固状態 (flocculated state) で流下することを確認している．

溷濁密度流はまた貯水池流入水の溷濁質濃度が大なる流れにおいて存在するものであり，椿[26] は浮流砂が流れにおよぼす実験を試み，濃度の高い流れにおいて KARMAN 常数Kが真水のそれより減少することを認め，これは浮流砂を含むために流れの中に安定な密度勾配が形成され，それが乱れを減衰せしめて乱れの拡散能力を小さくするからであるという．また久宝[27] は溷濁水流につき実験し，純水流では乱れの粘性係数が不同に分布され易いが，溷濁水流では一様に分布して流れが整流となる傾向をおびることを指摘している．

その他 RAYNAUD[28] は貯水池に流入する溷濁水の流れに関する研究で，底流溷濁水とその上層清水との接触面摩擦を考慮した実験解析を試み，REYNOLDS number の小さい場合に，その溷濁底層流は自由表面流に適用される法則に類似したところの法則にしたがうことを指摘した．

要するに貯水池では流入水によつて池水の安定度や水質に顕著な影響があり，湖沼などと本質的に異るようで，合田[4] は千苅貯水池の実測結果から，貯水池では通常の河川，開水路などと異なり，密度差の影響が顕著に現われることを明らかにしており，また密度差を考慮した3次元運動方程式による理論的考察からも，鉛直安定度 E や RICH-

ARDSON number Riが，その運動方程式で重要な意義をもつことを指摘されておるが，これらの点については実験実測を通じて次項以下で考察したい．

実際面においてGROVERやHOWARD(29)がLake MeadにおけるHooverダムの隧道出口から放出される溷濁水に関する報告以来，貯水池堆砂率を軽減する1方法として潜行密度流を利用する効果が注目されるようになつた．たとえばLake Meadにおける沈澱堆積物の実測によると，旧河床から100ft（30.5m）以上堆積されたことがわかつたが，そこで貯水池から沈澱堆積物を放出する実際的な方法として，密度流問題解決が重要問題となつて来たわけである．一般に溷濁密度流を利用した沈澱堆砂率軽減方法を技術的に採用する場合には，先づ洪水時の潜行密度流により溷濁質が運ばれてダムに達する時，その放出口を開いて溷濁水をそのまま放出する方法が考えられる．しかし密度流中における沈澱物が浮遊懸濁し始めると，掃流に対して大なる抵抗を示すようになり，その流速が減殺され底質の掃流洗掘作用は放出口付近において侵蝕谷をカツトするのみとなり，貯水池内沈澱堆積物全般にわたる掃流による放出効果が小となるだろう．それであるダムに沈澱物放出口を設ける場合，なるべく標高低い位置に大なる放出口を計画し，濃度大なる溷濁水が高速度でもつて高度な底質侵蝕作用をもつようしなければならぬ．

次に貯水池における沈澱堆積物の分析結果をみると，たとえばLake Meadの底質全般についての単位重量は64.8封度/立方呎（1.04 t/m³）を示し，沈澱物15ft（4.5m）なる中心部では単に20〜40封度/立方呎（0.32〜0.64 t/m³）であり．微細粒子からなる沈澱堆積物は孔隙率が非常に大きく，単位重量は小さいという(9)．筆者の現存貯水池における堆砂分析結果(21)(23)，あるいは後述の密度流による溷濁質やdensity-current bedsの分析結果などによると，浮流物質層（suspended-load layer）やダム付近のdensity-current bedsは，掃流物質層（tractional-load layer）に比して一般に微細なシルトやコロイド状の比重小さい暗青色を呈したもので，腐植含量多いいわゆる腐泥であり，しかもコロイド状粒子がよくflocculateしていることがわかつた．これら貯水池堆砂中で密度流で運ばれるものは単位重量小なる微細粒子であることが知れるが，もし貯水池内に沈澱堆積物を放出する落水孔（water trapped）のような装置が工夫できたら，比較的単位重量の大なる沈澱堆積物の放出が可能となり，堆砂による貯水池容積損失現象の軽減防止に役立つことになろう．

以上要するに貯水池における水理，水質特性では，河川や湖沼と異り密度流の果す役割が重要となつてくるが，この問題はまだわが国では未開拓であり，特にかんがい用貯水池では沈澱堆積埋没問題やかんがい水質，水温問題と関連して，将来大いに考究利用に努めなくてはならない面と考えられるが，以下筆者は主として沈澱堆積問題について若干この点検討したい．

Ⅲ　密度流に関する運動方程式の検討

近年河川や貯水池におけるsedimentを含む流動問題解決のため，土砂水理学Psammo-hydraulics(30)の確立が叫ばれるようになつたが，河川感潮部や貯水池に起る密度流問題も普通の水理学では容易に解かれない．これらについてREYNOLDS(31)は非圧縮性流体のNAVIER-STOKESの運動方程式から．乱流の速度を時間的平均値 $\bar{u}, \bar{v}, \bar{w}$ と速度変動 u'，v'，w'，とから成るものと考えて，$u=\bar{u}+u'$，$v=\bar{v}+v'$，$w=\bar{w}+w'$ とおき乱流成分を考慮した運動方程式を導き，乱流では速度変動があるため応力がいわゆるREYNOLDS stressだけ増すことを示した．しかしこの付加応力なるREYNOLDS stressの値を求めることは一般に困難でこのままでは実用にならなく，その対策としてBOUSSINESQ(31)は渦粘性，乱流粘性（eddy viscosity）なる概念を導入した運動方程式を導き，速度変動の影響は粘性が粘性係数 μ に渦粘性係数 ε だけ付加され，$(\mu+\varepsilon)$ となつて現われることを指摘した．以上非圧縮性乱流の取扱では密度 ρ をconstantとしており，密度差にもとづく密度流動の場合適用できない．これに対し浜田(5)は河口不等流の解析にあたりて，2次元乱流を論じ，REYNOLDSの示した速度変動の外に密度変動をも考慮した運動方程式を提示した．すなわちx（水流方向），z（鉛直方向）について，密度 ρ，速度分値u，wの時間的平均値を $\bar{\rho}$，$\bar{u}$，$\bar{w}$ とし，ある瞬間のそれよりの変動量を ρ'，u'，w' となしREYNOLDS stressを算出するのと同様の方法により2次元運動方程式を導いた．この場合実際河口での実測結果からその主な項だけを採用したのが(1)式である．

$$\left.\begin{aligned} \bar{\rho}\frac{\partial \bar{u}}{\partial t} + \bar{\rho}\,\bar{u}\frac{\partial \bar{u}}{\partial x} + \bar{\rho}\,\bar{w}\frac{\partial \bar{u}}{\partial z} &= -\frac{\partial \bar{P}}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial z}\left(-\bar{\rho}\,\overline{u'\,w'}\right) - \overline{\rho'\,w'}\frac{\partial \bar{u}}{\partial z} \\ 0 &= -g - \frac{1}{\bar{\rho}}\frac{\partial \bar{P}}{\partial z} \end{aligned}\right\} \quad \cdots\cdots\cdots(1)$$

ここでρ'に対する PRANDTLE型の混合距離 (mixing length) l_ρを$\rho' = l_\rho\left|\frac{\partial\bar\rho}{\partial z}\right|$とおくと(1)式の右辺第3項$\overline{\rho' w'}\frac{\partial \bar u}{\partial z}$は(2)式のように表現される．この場合$\eta_\rho$は，

$$\overline{\rho' w'}\frac{\partial \bar u}{\partial z} = \frac{\overline{\rho\, l_\rho w'}}{\bar\rho}\frac{\partial \bar u}{\partial z}\left|\frac{\partial\bar\rho}{\partial z}\right| = \eta_\rho\frac{\partial \bar u}{\partial z}\frac{\left|\frac{\partial\bar\rho}{\partial z}\right|}{\bar\rho} \quad \cdots\cdots(2)$$

ρを渦動拡散量と考えたときの拡散テンソルの成分で，BOUSSINESQ [31] が提唱した渦粘性係数 (coefficient of eddy viscosity) εと同じ dimension である．浜田 [5] はこの際，河口における河海水混合の場合では，$\left|\frac{\partial\bar\rho}{\partial z}\right|$は一般に$\frac{\partial\bar\rho}{\partial x}$に比して大であるから，$\rho'$は主として$\frac{\partial\bar\rho}{\partial x}$に支配されるという考え方から，信濃川（新潟港）や北上川（石巻港）の河口における実測により，$\tau = -\bar\rho\,\overline{u'w'}$の鉛直分布を求め$\eta_\rho$の大きさやその変化状態を考究している．このような解析は，河川感潮部分のごとく密度差の大なる河海水が互層をなして，その境界面で混合が行われ，しかも深さの変化のみあり巾のあまり変らないような場合には，有意義な密度流動方程式と考えられるが，貯水池のように流路横断面が急に拡大される場合には適さないであろう。

これに対して久宝 [30] は沖積地における土砂水理解決のため，土砂水では速度や密度変動の他にその粘性係数にも変動あるものとしておなじような3次元解析を試み，(3)式に示すような沖積地河川流に関する基本的運動方程式を示した．

$$\bar\rho_x\frac{\partial\bar u}{\partial t} + \overline{\rho'_x\frac{\partial u'}{\partial t}} + \bar\rho'_x\left(\bar u\frac{\partial\bar u}{\partial x} + \bar v\frac{\partial\bar u}{\partial y} + \bar w\frac{\partial\bar u}{\partial z}\right) + \bar\rho_x\left(\overline{u'\frac{\partial u'}{\partial x}} + \overline{v'\frac{\partial u'}{\partial y}} + \overline{w'\frac{\partial u'}{\partial z}}\right)$$
$$+ \left(\overline{\rho'_x u'}\frac{\partial\bar u}{\partial x} + \overline{\rho'_x v'}\frac{\partial\bar u}{\partial y} + \overline{\rho'_x w'}\frac{\partial\bar u}{\partial z}\right) + \left(\bar u\,\overline{\rho'_x\frac{\partial u'}{\partial x}} + \bar v\,\overline{\rho'_x\frac{\partial u'}{\partial y}} + \bar w\,\overline{\rho'_x\frac{\partial u'}{\partial z}}\right)$$
$$= \bar\rho_x\bar X - \frac{\partial\bar P_x}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial x}\left(\bar\mu_{yz}\frac{\partial\bar u}{\partial x} + \overline{\mu'_{yz}\frac{\partial u'}{\partial x}}\right) + \frac{\partial}{\partial y}\left(\bar\mu_{zx}\frac{\partial\bar u}{\partial y} + \overline{\mu'_{zx}\frac{\partial u'}{\partial y}}\right)$$
$$+ \frac{\partial}{\partial z}\left(\bar\mu_{xy}\frac{\partial\bar u}{\partial z} + \overline{\mu'_{xy}\frac{\partial u'}{\partial z}}\right) \quad\cdots\cdots(3)$$

ここで速度分値は$u=\bar u+u'$，$v=\bar v+v'$，$w=\bar w+w'$，密度分値は$\rho_x=\bar\rho_x+\rho'_x$，$\rho_y=\bar\rho_y+\rho'_y$，$\rho_z=\bar\rho_z+\rho'_z$および粘性係数分値は$\mu_{xy}=\bar\mu_{xy}+\mu'_{xy}$，$\mu_{yz}=\bar\mu_{yz}+\mu'_{yz}$，$\mu_{zx}=\bar\mu_{zx}+\mu'_{zx}$のように，それぞれ時間的平均値と変動値との和で示すものとし，dash は変動および乱れ量を示すものとすると，μ'_{xy}，μ'_{yz}，μ'_{zx}は乱れ変動する部分的粘性係数を示すことになり，久宝はこれを変動粘性係数とした．この運動方程式には速度，密度および粘性係数に関する3変動因子が導入されているが，簡易化されなくては実際問題としての使用に適さないであろう．

また最近合田[4]は上水源貯水池の密度流問題解析にあたりて，浜田[5]とおなじように速度変動の外に密度変動を考慮した3次元運動方程式を示している．すなわち非圧縮性流体では通常密度ρを一定として取扱うが、貯水池密度流を考える場合には，ρをx，y，z，t の function として取扱う必要があるわけで，合田は流速のx，y，z 方向における分値を u，v，w，外力の分値をX，Y，Z，内部応力のテンソルをτ_{ij}となし，乱流場では速度分値 u，v，w は平均値と変動値とから成り，$u=\bar u+u'$，$v=\bar v+v'$，$w=\bar w+w'$であるとともにρについても平均値と変動値を考え$\rho=\bar\rho+\rho'$となし，この変動値ρ'はt時間中にu'，v'と同様$\bar\rho'=\int_{\xi-t/2}^{\xi+t/2}\rho(\xi)\,d\xi$とみなし，REYNOLDS stress で表現した運動方程式として(4)式を提示した．この式で$\frac{D}{Dt}$は演算子$\frac{\partial}{\partial t}+\bar u\frac{\partial}{\partial x}+\bar v\frac{\partial}{\partial y}+\bar w\frac{\partial}{\partial z}$を示すものであり，変動流による付加応力がそれぞれ右辺第3項以下にまとめられている．

なお前述浜田の運動方程式は2次元乱流を取扱つており，簡易化した(1)式は(4)式の※印をつけた項のみをとつたことになる．

$$\bar\rho\frac{D\bar u}{Dt}^{※} = \bar\rho X - \frac{\partial\bar P}{\partial x}^{※} - \frac{\partial}{\partial t}(\overline{\rho'u'}) - \overline{\rho'u'}\frac{\partial\bar u}{\partial x} - \overline{\rho'v'}\frac{\partial\bar u}{\partial y} - \overline{\rho'w'}\frac{\partial\bar u}{\partial z}^{※}$$
$$-\frac{\partial}{\partial x}(\bar\rho\,\overline{u'u'} + \bar u\,\overline{\rho'u'} + \overline{\rho'u'u'}) - \frac{\partial}{\partial y}(\bar\rho\,\overline{u'v'} + \bar v\,\overline{\rho'u'} + \overline{\rho'u'v'})$$
$$-\frac{\partial}{\partial z}(\bar\rho\,\overline{u'w'}^{※} + \bar w\,\overline{\rho'u'} + \overline{\rho'u'w'}) \quad\cdots\cdots(4\text{—}1)$$

$$\bar{\rho}\frac{D\bar{v}}{Dt} = \bar{\rho}Y - \frac{\partial\bar{P}}{\partial y} - \frac{\partial}{\partial t}(\overline{\rho' v'}) - \overline{\rho' u'}\frac{\partial\bar{v}}{\partial x} - \overline{\rho' v'}\frac{\partial\bar{v}}{\partial y} - \overline{\rho' w'}\frac{\partial\bar{v}}{\partial z}$$

$$- \frac{\partial}{\partial x}(\bar{\rho}\,\overline{v'u'} + \bar{u}\,\overline{\rho' u'} + \overline{\rho' v'u'}) - \frac{\partial}{\partial y}(\bar{\rho}\,\overline{v'v'} + \bar{v}\,\overline{\rho' v'} + \overline{\rho' v'v'})$$

$$- \frac{\partial}{\partial z}(\bar{\rho}\,\overline{v'w'} + \bar{w}\,\overline{\rho' v'} + \overline{\rho' v'w'}) \cdots\cdots (4-2)$$

$$\bar{\rho}\frac{D\bar{w}}{Dt} = \bar{\rho}Z^{*} - \frac{\partial\bar{P}^{*}}{\partial z} - \frac{\partial}{\partial t}(\overline{\rho' w'}) - \overline{\rho' u'}\frac{\partial\bar{w}}{\partial x} - \overline{\rho' v'}\frac{\partial\bar{w}}{\partial y} - \overline{\rho' w'}\frac{\partial\bar{w}}{\partial z}$$

$$- \frac{\partial}{\partial x}(\bar{\rho}\,\overline{w'u'} + \bar{u}\,\overline{\rho' u'} + \overline{\rho' w'u'}) - \frac{\partial}{\partial y}(\bar{\rho}\,\overline{w'v'} + \bar{v}\,\overline{\rho' w'} + \overline{\rho' w'v'})$$

$$- \frac{\partial}{\partial z}(\bar{\rho}\,\overline{w'w'} + \bar{w}\,\overline{\rho' w'} + \overline{\rho' w'w'}) \cdots\cdots (4-3)$$

その他河川感潮部における解析には，ARONS & STOMMEL の理論，KETCHUM の方法，SCHIFF などの理論[4]あるいは市栄[32][33][34]の研究などがあるが，貯水池密度流ではその密度が主として温度にもとづくもので小さく，一般に3次元不定流となるため解析が困難とされている．この点に関して合田[4]は前述運動方程式において鉛直安定度 E やRICHARDSON number Ri が重要な意義をもつことを指摘した．すなわち，密度勾配に抗して運動量輸送がなされる場合に，乱れを維持する enegy は当然減少し，その傾向は密度勾配が大きくなるほど強く，この密度勾配が乱れに対する安定度の指標であり，特に鉛直方向の密度勾配すなわち $\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial z}$ が重要であり，これを鉛直安定度Eとした．この点浜田[5]も河口における河海水混合の場合では，一般に $\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial x}$ に比し $\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial z}$ が大であるので，ρ' は主として垂直安定度 $E = \frac{\partial\bar{\rho}}{\partial z}$ に支配されるとしているが，貯水池においても，$\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial x}$ や $\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial y}$ などに比し $\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial z}$ が一般に大きく，その強さは上下，季節などにより異なることになろう．次に RICHARDSON number は鉛直方向の密度勾配に抗して運動量輸送がなされるため消費される energy と，これを補う乱れの energy の比率を示すところの無次元量(5)式で示されている．

$$Ri = \frac{\left|\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial z}\right|}{\bar{\rho}}\,\frac{g}{\left(\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right)^2} \cdots\cdots (5)$$

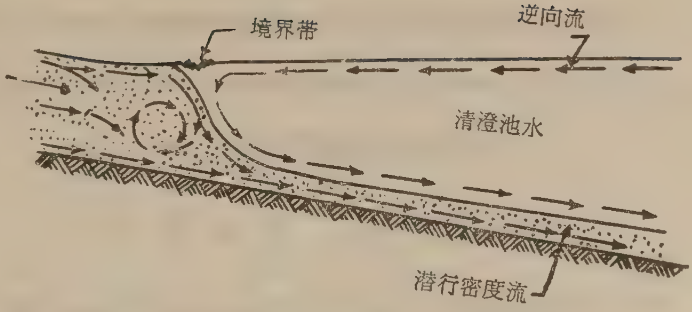
通常乱流の起りうる限界値として $Ri < \frac{D}{\varepsilon} = 1$ （D：物質拡散係数，ε：渦粘性係数）が与えられているが，合田は Ri は流体の乱れに対する安定度の指標になるとして(2)式の右辺に導入し(6)式を誘導し，なお浜田のあつかつた(1)式の成立するような条件の下では(4)式の第1式は(7)式のようになり，この式の末項すなわち $\frac{\eta\bar{\rho}Ri}{g}\left(\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right)^3$ が乱れを減衰させようとする力の大きさを示すという．

$$\overline{\rho' w'}\,\frac{\partial\bar{u}}{\partial z} = \frac{\eta\bar{\rho}Ri}{g}\left(\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right)^3 = \frac{\bar{\rho}Ri}{g}\,l_\rho l_w\left|\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right|\left(\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right)^3 \cdots\cdots (6)$$

（ただしここで l_w は $w' = l_w\left|\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right|$ で定義される長さの元をもつ）

$$\bar{\rho}\frac{D\bar{u}}{Dt} = -\frac{\partial\bar{P}}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial z}(-\bar{\rho}\,\overline{u'w'}) - \frac{\eta\bar{\rho}Ri}{g}\left(\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right)^3 \cdots\cdots (7)$$

このように合田の運動方程式を簡略化されているが，実際貯水池密度流の流動状態を把握するために，(4)式や(7)式などを現地貯水池を対象にした複雑な境界条件のもとで連続方程式としてとくのは困難を伴い，貯水池で実測した $\bar{\rho}$，$\frac{\partial\bar{\rho}}{\partial z}$，$\bar{u}$ などをもとにして $\frac{\eta\bar{\rho}Ri}{g}\left(\frac{\partial\bar{u}}{\partial z}\right)^3$ などの位置並びに時間的大小変化状態を比較して，貯水池内密度流動状態を概略的に知り得る程度となろう（以下次号）．



第1図　清澄池水に流入する溷濁水の潜行 (Bell)

(a) 溷濁河水が貯水池に流入し潜行溷濁密度流となる状態

(b) 溷濁密度流先端がダムに達して乱れる状態

(c) 溷濁水が潜行氾濫し静止状態となつた溷濁貯水池の状態

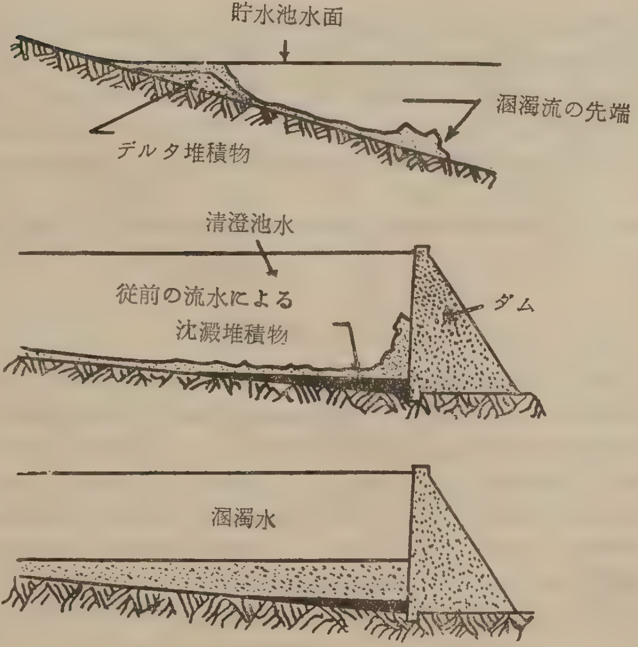


図2　貯水池における密度流の沿革過程 (Bell)

オリーブ炭疽病菌の 2-chlorophenoxyacetic acid 或いは 2-methylphenoxyacetic acid 添加培養による抗菌性物質生成について

内藤中人, 小島義之

Fungitoxic substance production by *Gloeosporium olivarum* which was grown on media containing either 2-chlorophenoxyacetic acid or 2-methylphenoxyacetic acid.

Nakato NAITO and Yoshiyuki KOJIMA (Laboratory of Phytopathology)

(Received April 27, 1957)

筆者のひとり内藤らはさきに，オリーブ炭疽病菌の 2,4-D添加培養濾液中には，同菌発育に対する 2,4-D抑制作用の主因をなすと考えられる一抗生物質が生成せられることを報じ(6,9)，つづいて，2,4,5-T，MCP の 2,4-D類似化合物にも，同様の現象がみられることを明らかにした(7,10)．その後，おなじく2,4-D類似化合物である 2-chlorophenoxyacetic acid，2-methylphenoxyacetic acid についても，同様の傾向を確認するとともに，抗菌性物質生成を誘致するこのような性質は，これら化合物の側鎖-OCH_2COOH に基因するものと推定せられるにいたつた．ここにその大要を報告する．

本稿起草にあたり，供試薬剤の入手に御便宜をたまわつた日産化学株式会社，実験を援助された谷利一助手に深謝の意を表する．

実験材料

供試薬剤は，2,4-Dと化学構造式が類似している 2-chlorophenoxyaceitc acid (CPA)，2-methylphenoxyacetic acid (MPA) の２種 phenoxy 系化合物と，2-methylphenol (MP)，2-chlorophenol (CP)，2,4-dichlorophenol (DCP) の３種 phenol 性化合物とである（後記構造式参照）．これら５種薬剤はいずれも，ひかくてき水に難溶のため，acetone 溶液として培地に加えた．したがつて，生長曲線に関する実験においては，供試薬剤をまつたく添加しない標準培地のほかに，最高濃度（0.2％）の薬剤添加区と同一の acetone 濃度になるよう，acetone のみを加えたもの（第１表 acetone 区）も設けて，比較に供した．基本培地の処方は，peptone 20 g，sucrose 50 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.4 g，KH_2PO_4 1 g，水1 *l* で，寒天培地には寒天 20 g を加えた．供試菌は，本研究室保存のオリーブ炭疽病菌 (*Gloeosporium olivarum* Alm.) で，6－7日間 25°C で培養した同菌菌叢の先端を約２mm の大きさに切りとり，接種源とした．

実験方法と結果

1. ５種薬剤添加寒天培地における菌の発育

(1) 生長曲線

抗菌性物質生成を誘致する 2,4-D (4,8)，2,4,5-T および MCP (7,10) にあつては，これら薬剤を添加した培地におけるオリーブ炭疽病菌の生長曲線が，いずれも "staling type" であるのに対し，抗菌性物質生成を誘致しない薬剤 (4,7,8,10) では，すべて "non-staling type" であるという既往の成績にかんがみ，まず，供試薬剤添加の peptone 加用合成寒天培地を用い，主として本菌の生長曲線をしらべた．１区５－７コずつのペトリ皿に 25°C，17日間平面培養して毎日菌叢直径を測定し，接種源の直径をさしひいたのであるが（第１表），acetone 区と標

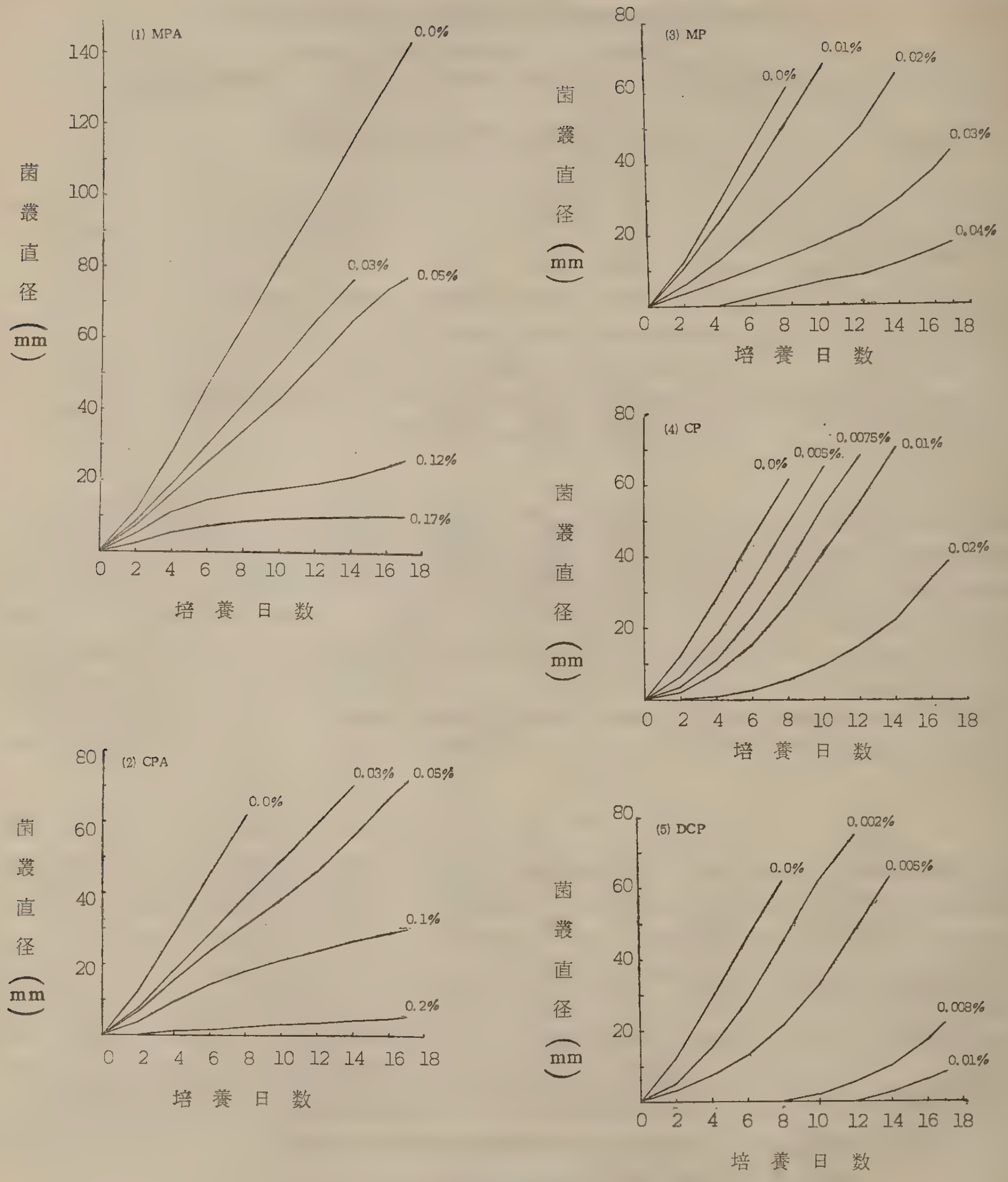
第1表 各種薬剤を添加したpeptone加用合成寒天培地における オリーブ炭疽病菌の菌叢直径 (mm)

(25°C, 2回実験平均)

薬剤	濃度 (%)	2	4	6	8	10	12	14	16	17
		培養経過日数								
MPA	0.17	2.4	5.7	7.8	8.9	9.5	10.0	10.2	10.3	10.3
	0.12	4.9	11.1	14.8	16.7	17.8	19.3	21.4	24.8	26.6
	0.05	7.5	16.7	25.5	34.0	43.0	54.0	65.7	74.7	77.5
	0.03	8.6	19.5	30.6	41.6	53.4	65.7	76.8	…	…
CPA	0.2	+	1.3	1.9	2.5	3.3	3.8	4.4	5.0	5.3
	0.1	3.9	9.9	14.5	18.1	21.2	23.9	26.9	29.1	30.5
	0.05	7.4	15.9	23.9	31.1	38.3	46.5	56.5	67.5	71.9
	0.03	7.8	18.7	28.8	39.4	49.3	60.0	70.8	…	…
MP	0.04	−	+	2.9	5.0	7.0	8.5	11.4	15.2	17.5
	0.03	3.4	6.9	10.7	14.0	18.3	22.5	29.3	37.6	43.5
	0.02	5.4	12.9	21.5	30.1	39.9	50.1	65.1	…	…
	0.01	10.5	23.1	37.9	52.8	68.0	…	…	…	…
CP	0.02	−	0.5	2.5	5.6	9.7	15.1	22.6	34.7	39.1
	0.01	1.7	7.8	15.5	27.0	41.3	56.0	71.0	…	…
	0.0075	3.2	11.1	22.9	37.6	54.6	68.7	…	…	…
	0.005	5.9	17.8	33.0	49.6	65.2	…	…	…	…
DCP	0.01	−	−	−	−	+	+	2.7	6.1	8.7
	0.008	−	−	−	+	2.1	5.3	9.9	17.3	22.0
	0.005	+	3.1	7.3	13.0	21.2	32.3	47.6	63.2	…
	0.002	5.0	15.0	28.4	45.2	61.8	74.7	…	…	…
	0.0003	11.3	28.8	45.9	62.9	76.5	…	…	…	…
acetone区		10.2	24.7	40.8	57.6	73.6	…	…	…	…
標準無添加 (ペトリ皿)		12.2	28.9	45.9	62.2	…	…	…	…	…
〃 (硝子管)*		11.2	28.4	47.4	64.4	82.6	99.0	117.8	134.6	143.4

(註) * 特製硝子管の一端に接種したときの菌叢長径(4)を2倍して引用した
— 菌糸のまつたく伸長しないもの
+ 菌糸は伸長しているが，測定にいたらぬもの
… ペトリ皿一杯にのびきつたもの

準区とのあいだには，あまり差異はみられない．したがつて本結果は，各薬剤とも菌糸の伸長を抑制し，且つ濃度の高いものほどその程度がいちじるしいことを示すものといえよう．しかし，その生長曲線をみると，MPA，CPA 両区においては，低濃度区をのぞき，凸字の対数曲線型を示しているのに対し〔第1図(1)，(2)〕，他の薬剤のばあいは，むしろ凹字の指数曲線型である〔第1図(3)，(4)，(5)〕．いいかえると，前者の生長速度は，培養経過日数とともに減少するのに対し，後者では増加していることとなる．前者のような凸字の対数型生長曲線は，



第１図 (1)—(5) 各種薬剤添加培地におけるオリーブ炭疽病菌の生長曲線
〔(1)の標準区のみは硝子管の値による〕

培養中における培地pHの変動か栄養源の消耗による以外は，主として，抗菌性を有する staling substance の生成にもとづくものと従来考えられているが，本実験では pH の変動はあまりみられず，また，添加区よりもはるかに生長の良好な標準区が，直線状の生長を示すことからも推測できるように，C、N 源はなお多量に残存していた．したがつて，MPA，CPA の示す生長曲線は，培養中に生成せられる抗菌性物質に基因するものと推定して，後記**2**の実験に着手した．

なお，添加区菌叢直径の標準区菌叢直径に対する指数をもつて，薬剤の in vitro における抑制効果をはかる

規準とすれば，MPA，CPA 両区の指数は，だいたい培養経過日数とともに減少し，他の薬剤では増加していたから，MPA および CPA の抑制効果は，培養のすすむにつれて増大し，他の薬剤では減少するものといえよう．供試濃度のほぼ中間にくらいする濃度のみについて，この関係を例示すると，第2表のとおりである．

第2表　各種薬剤を添加した peptone 加用合成寒天培地における
オリーブ炭疽病菌菌叢直径の対標準区指数（標準区＝100）

薬　剤	培養経過日数							
	2	4	6	8	10	12	14	16
0.12%MPA	44	39	31	26	22	20	18	18
0.1%CPA	35	35	31	28	26	24	23	22
0.02%MP	48	45	45	47	48	51	55	
0.01%CP	15	28	33	42	50	57	60	
0.005%DCP		11	15	20	26	33	40	47

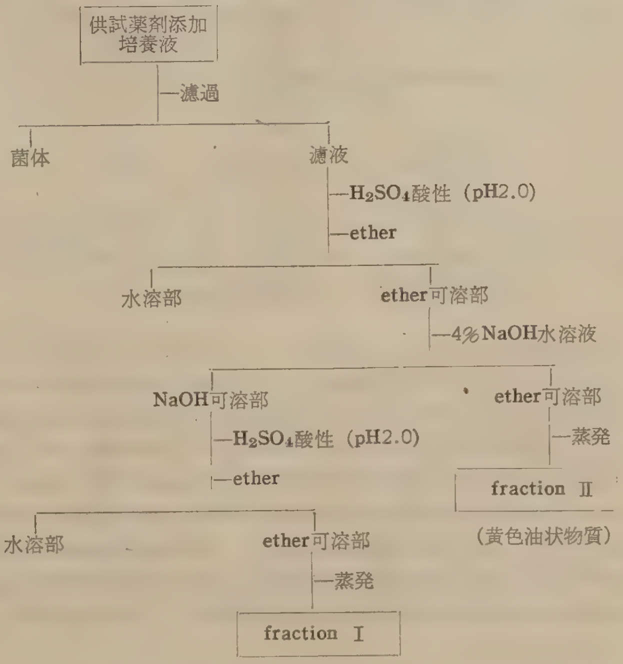
(2)　**菌叢表面の状態**

標準無添加培地の菌叢は，培地面を周辺にむかつてほぼ均一に，円形をなして発育してゆくが，MPA，CPA 添加培地ことに高濃度区では，菌叢がしだいに寒天とともにもりあがつて，ペトリ皿底面とのあいだに空間を生じ，培地に亀裂ができることもある．また菌叢周縁部も円形にならず，波状を呈する．分生胞子の形成も添加培地のほうが少なく，高濃度区ではまつたく形成をみないか，ごく微量である．したがつて，菌叢面の赤橙色に着色するのも添加区ではおそく，且つ着色の程度も濃度の高いものほど少ない．これに対し，MP，CP，DCP 添加区の菌叢には，高濃度のときでも上述のようなもりあがりは認められず，且つほぼ円形を呈している．しかし分生胞子の形成はわるいので，菌叢の色はやはり濃度の高くなるにつれてうすくなり，高濃度区では白色に近くなる．

要するに，MPA，CPA の両区は，他の供試薬剤のばあいと異なり，"staling type" の生長曲線を示すのみでなく，菌叢にもりあがりがみられること，菌叢周縁部が波状を呈することの2点で，外観的にもいちじるしい特性を有するものといえよう．Brown [1,2] も，"staling type" の菌は生長速度が低下してくるほかに，菌叢周縁部が波状を呈して不規則となること，菌叢の厚みが正常なものとちがうことを報告している．

2.　MPA 或いは CPA 添加培養濾液分別 fraction の示す抗性

オリーブ炭疽病菌の MPA あるいは CPA 添加培地における生長曲線ならびに菌叢の状態は，培養中における抗菌性物質の生成を暗示せしめたが，このような物質が果して培地中に実在しているかどうかを確かめるため，これら薬剤



第2図　供試薬剤添加培養液にオリーブ炭疽病菌を培養した培養濾液の分別過程

添加の培養液を，2,4-D (5,8)，2,4,5-TおよびMCP (7,10) 添加のばあいと同様の方法で分別し（第2図），Ⅰ，Ⅱ両fraction の本菌に対する抗菌性を検してみた．両 fraction をとくに選んだゆえんは，2,4-D (5,6,8,10)，2,4,5-TおよびMCP(7,10) 添加のばあいに生成せられる抗生物質は，fractionⅡに存在することが判明しているのと，添加したMPA，CPA は fraction Ⅰに移行するので，この fraction の抗菌性をしらべることによつて，培養中における両剤の変性，消失の有無，あるいはその程度などについて，なんらかの傾向がえられはしないかと考えたからである．

まず，0.1，0.12%MPAあるいは0.1% CPA添加の培養液50 ccずつを分注した200 cc三角フラスコに，25°-30°Cの室温で12，24日間本菌を培養し（第1次培養），そのフラスコ4コぶんの培養濾液より分別した fractionⅠおよびⅡを，原培養液と同一且つ同量（200 cc）の寒天培地に加え，これにふたたび本菌を25°C，7日間培養し（第2次培養），その菌叢直径を測定した．1区ペトリ皿5コずつの平均値をみるのに（第3表），黄色油状物質であるfractionⅡは，0.1%MPA区をのぞき，2,4-D (5,8)，2,4,5-TあるいはMCP(7,10) 添加のときと同様に，いちじるしい抑制効果を示しているが，fractionⅠは，0.12%MPA 12日培養区にいくぶん抑制がみられる以外は，ほとんど抑制を示していない．前項の実験において "non-staling type" の生長曲線を示した他の3種薬剤についても，0.015，0.02%CP，0.02，0.03，0.04%MPおよび0.003，0.005%DCPをそれぞれ添加して12日間培養したものを使用し，同様の方法により分別した fractionⅡ の抗菌性を検したが，抑制はまつたく認められなかつた．

第3表 CPA 或いはMPA添加培養液にオリーブ炭疽病菌を第1次培養し，その培養濾液の分別fraction を加えた寒天培地で第2次培養した同菌菌叢直径（2回実験平均）

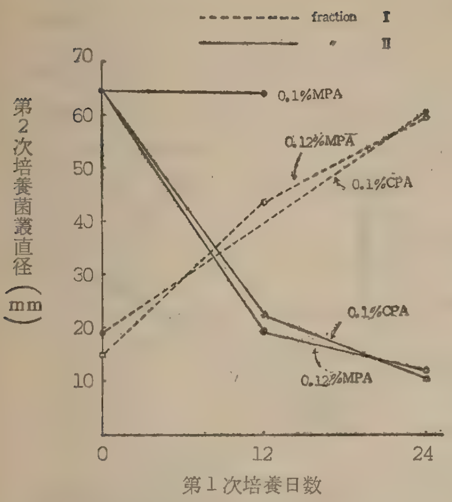
（25°C，培養7日）

区別	第1次培養		第2次培養	
	培養日数	fraction	菌叢直径(mm)	同対標準区指数
CPA-標準区 *			19.1	30
0.1%CPA	24	Ⅰ	60.3	94
	12	Ⅱ	18.9	30
	24	Ⅱ	12.3	19
MPA-標準区 *			14.7	23
0.12%MPA	12	Ⅰ	43.7	68
	24	Ⅰ	59.7	93
	12	Ⅱ	22.3	35
	24	Ⅱ	10.5	16
0.1%MPA	12	Ⅱ	64.0	98
標準区**			64.3	100

* 第1次培養を欠ぎ，それぞれ0.1%CPA，0.12%MPAのみを添加した培地で培養したもの

** 第1次培養を欠ぎ，正常培地で培養したもの

上記抗菌性物質生成とMPA,CPAの濃度ならびに培養日数との関係は，第3表を図示した第3図がこれを明示している．すなわち，fractionⅡにあつては，両剤とも第1次培養の長いほうが，また，供試濃度の範囲では濃度の高いものほど，第2次培養の発育がわるく，つまり該物質生成量の多い傾向を示している．これに反して，添加したMPAおよびCPAの移行する fractionⅠ は，第1次培養日数の長いものほど抑制効果は減少している．これは，両剤が培養中に抗菌性の弱い物質に変性してゆくか，本抗菌性物質の precursor をなしていることを暗示するものではなかろうか．



第3図 CPA或いはMPA添加培養濾液分別 fraction の示す抗菌性と培養日数並びに添加薬剤濃度との関係

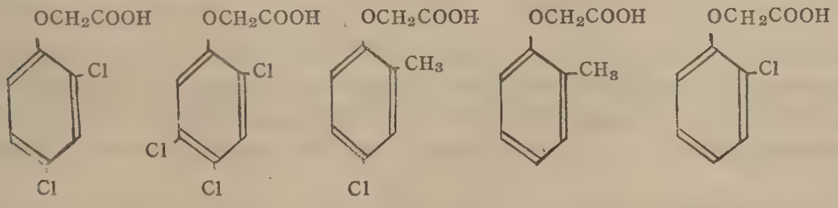
(註) fraction II に生成される抗菌性物質生成量は，培養0日では0のはずであるから，本図の培養0日は第3表標準無添加の値をあてた．一方培養0日のときの添加薬剤はもとのままのはずであるから，fraction I の培養0日は，それぞれ第3表 CPA-標準区，MPA-標準区の値をもつて図示した．

考　　察

既報(7,10)において，オリーブ炭疽病菌の抗菌性物質生成を誘致する性質は，2,4-D ならびに類似化合物の特性であると推断したが，MPA，CPAも同様の傾向を有するという本実験結果は，よくこの推断に一致するものといえよう．また，このような性質は側鎖，benzene 核のいずれに存するのかの観点から，2,4-D，MPA，CPA の側鎖の部分がそれぞれ OH で置換せられた3種の phenol 性化合物（下記構造式参照）をも供試したのであるが，これらにはそのような性質が認められなかつたのであるから，本性質は側鎖の $-OCH_2COOH$ に存するものと推定せられる．このように，benzene 核の Cl，CH_3 の有無，数，位置などは，本性質発現の必須的因子とは考えられないが，その強弱には影響するもののようである．高等植物でも同様の事実が知られている．

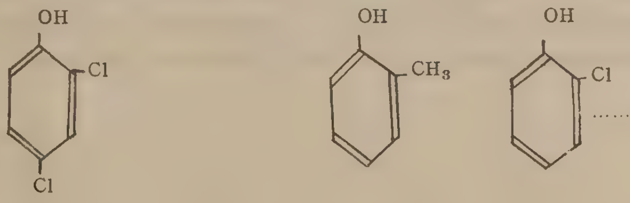
いま，抗菌性物質生成の有無の観点から，本報および既報(4,6,7,9,10)の結果を整理してみると，つぎのとおりである．

抗菌性物質生成を誘致する薬剤



2,4-D　　2,4,5-T　　MCP　　MPA　　CPA

抗菌性物質生成を誘致しないか，"non-staling type" の生長曲線を示すことから推して生成の否定される薬剤



…… phenol 性化合物

DCP　　MP　　CP

potassium α-naphthaleneacetate (NAK) ………………………………………… 植物生長ホルモン

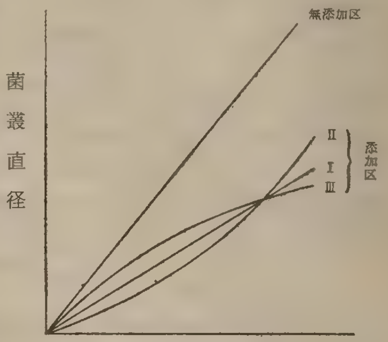
isopropyl-n- (3-chlorophenyl) carbamate (IPC)
pentachlorophenol (PCP) } ………………… 除草剤
uspulun, 硫酸銅 ………………………………………… 殺菌剤

本菌の標準無添加寒天培地における生長曲線はほぼ直線状であるが，各種薬剤添加寒天における本菌生長相について，本実験および既報[4,7,8,10]の結果を整理してみると，だいたい第4図のような3型に大別できるように思われる．

〔Ⅰ〕 培養中の生長速度はほとんど不変で，ほぼ直線状の生長曲線を示すもの……硫酸銅，uspulun

〔Ⅱ〕 培養経過日数とともに生長速度は増加し，concave upwardsの生長曲線を示すもの……IPC，PCP，NAK，MP，CP，DCP

〔Ⅲ〕 培養経過日数とともに生長速度は減少し，convex upwards の生長曲線を示すもの……2,4-D，2,4,5-T，MCP，MPA，CPA



第4図 オリーブ炭疽病菌の各種薬剤添加peptone加用合成寒天培地における生長曲線型模式図

ただし，〔Ⅰ〕に属せしめた薬剤のばあいも，くわしく実験成績を再検討してみると，培養のすすむにつれて生長速度の増加する傾向がいくぶん認められるふしもあるので，厳密には〔Ⅱ〕,〔Ⅲ〕の両型に大別し，それぞれの特性のいちじるしくないとき〔Ⅰ〕に類似の型となると解したほうが，むしろ合理的であるかもしれない．硫酸銅，uspulun などのように重金属をふくむ殺菌剤の抑制機構は，主として，これら重金属イオンと菌体酵素SH基との結合に帰せられているようなので[3]，培養の進行につれて菌体が増加する以上，培地中の重金属活性イオン濃度は，理論的には減少してゆくはずである．したがつて，これら薬剤添加のばあいに，培養経過とともに生長速度がいくぶん増加する傾向は，このような抑制機構のみからしても一応なつとくがゆくところである．その他の薬剤においては，有効成分の揮発，変性なども，その一因として当然考慮されねばなるまい．さいごに，生長曲線の型は培地の種類，培養温度，添加薬剤の濃度などによつてちがつてくることも知られており，したがつて，すべての培養条件下に通ずる生長曲線型を各薬剤につき規定することの不可能なことは，論をまたないところであろうから，上記の類別も，あくまで限定条件下における一傾向にすぎないことを附加しておきたい．

摘　　要

1. 2-chlorophenoxyacetic acid (CPA) あるいは 2-methylphenoxyacetic acid (MPA) を添加した peptone 加用合成寒天培地におけるオリーブ炭疽病菌 (*Gloeosporium olivarum* Alm.) の生長曲線は凸字の対数曲線型であるが，2-methylphenol (MP)，2-chlorophenol (CP)，あるいは 2,4-dichlorophenol (DCP) を添加した同培地の生長曲線は凹字の指数曲線型である．すなわち，前者では培養のすすむにつれて生長速度が減少するに対し，後者では反対に増加する．

2. MPA，CPA 添加区の菌叢はもりあがり，且つ周縁部も波状となるなど，"staling type" の様相を示すのに対し，MP，CP，DCP ではもりあがりはなく，周縁部も円形を呈する．

3. 本菌の MPA あるいはCPA 添加培養濾液中には，ある種の抗菌性物質が生成せられ，黄色油状物質として粗分離できた．本物質は培養経過日数とともに増加し，供試濃度の範囲では，添加濃度が高いものほど生成量も多い．

4. MPAおよびCPAが抗菌性物質生成を誘致するのは，その側鎖-OCH_2COOHにもとづくものであろう．

引用文献

(1) BROWN, W.: *Ann. Bot.*, **37**, 105-129 (1923).

(2) ———: *Ibid.*, **39**, 373-408 (1925).

(3) 飯田格：植物防疫，**8** (3), 101-105 (1954).

(4) 内藤中人，国方弘：植物病害研究，**5** (3), 113-118 (1955).

(5) ———，谷利一：日植病報，**19** (3-4), 129-132 (1955).

(6) ———，———：香川農大学術報告，**7** (1), 41-50 (1955).

(7) ———，———：日植病報，**21** (2-3), 74-78 (1956).

(8) NAITO, N., TANI, T.: *Japan. J. Botany*, **15** (2), 152-163 (1956).

(9) ———，———: *Forsh. Pfl. Kr.*, **5** (4), 127-138 (1956).

(10) ———，———: *Tech. Bull. Kagawa Agr. Coll.*, **8** (2), 157—167 (1957).

Résumé

1. *Gloeosporium olivarum* Alm., the agent of olive anthracnose, was grown in the presence of a range of concentrations of five chemicals, 2-chlorophenoxyacetic acid (CPA), 2-methylphenoxyacetic acid (MPA), 2-methylphenol (MP), 2-chlorophenol (CP), and 2,4-dichlorophenol (DCP). The growth curve of the fungus cultured for 17 days at 25°C on peptone-salts agar containing either CPA or MPA was of the logarithmic type (convex upwards), indicating a progressive decrease in the rate of development, corresponding to an increase in the inhibitory activity of each chemical. On the other hand, the mycelial curve on media supplied with other chemicals was of the exponential type (concave upwards), indicating a progressive increase in the rate of development, and the inhibitory effect of the chemicals declined progressively.

2. The colony of this fungus on agar media containing either CPA or MPA, where growth of the "staling" type occurs, loses its circular outline as growth continues, and the margin becomes wavy and irregular. The mycelial mat, especially in higher concentrations of these chemicals, is greatly raised together with agar, forming a gap between agar and the bottom of petri dish. On the other hand, the colony on media containing either MP, CP, or DCP does not show such characteristic changes, thus the colony retaining its circular and flat shape.

3. When the fungus was grown in liquid media containing either CPA or MPA, a certain fungitoxic substance was crudely isolated as a yellowish oil from the culture filtrates. The relative titer of the substance was gradually increased with the culture duration and also with the increase of concentration of each chemical at least within the concentration tested.

4. Nature of inciting a fungitoxic substance production, characteristic of 2,4-D and related compounds, is considered to be attributed to the action of side chain ($-OCH_2COOH$) of these chemicals.

キレート試薬の土壌肥料分析への応用

I　EDTA試薬による過燐酸石灰中の燐酸の定量法について

星　川　玄　児

Application of chelating agents to soil and fertilizer analysis.

I. Volumetric determination of phosphate in calcium superphosphate with EDTA.

Genji HOSHIKAWA (Laboratory of Science of Soil and Manure).

(Received April 4, 1957)

最近の分析化学の進歩はめざましいものであるが，この原因としては分析機器の発達とならんで有機試薬の存在を忘れることができない．なかでもEDTA試薬 (Ethylenediaminetetraacetic acid)* の利用状況は実に驚くべきものがあり，1946年に SCHWARZENBACH[1] が水の硬度測定に利用して，従来の石けん法に較べてはるかに正確で迅速なことを見出して以来，これまで特異的試薬のあまりなかつたアルカリ土類金属の定量はもちろん，あらゆる領域の無機，有機分析に，あるいは直接定量試薬として，あるいはイオン交換樹脂との併用や masking agent として，年とともに発展を続けており,** 現在 SCHWARZENBACH[2]，上野[3] によつて単行本が公刊されているほか多くの人によつて綜説が書かれてきている[4−22]．また最近EDTAならびにEBT試薬が JIS 規格に制定されたこともこれら試薬の多用性を示すものであろう[23]．

さて上にものべたようにこの試薬はCa，Mg 定量試薬として出発したものであるがその他多くの金属イオンとも安定な錯化合物をつくるので，選択的な特性をもつ試薬とは言い難く多成分系の試料の分析にあたつては，1) pHの調節，2) masking agent の使用，3) 分離又は抽出，4) イオン交換樹脂の使用，などの前処理を必要とし場合によつては非常にわずらわしく，またその割合に他の方法に較べて精度の低下をまぬがれないこともある．これらの欠点を除くため現在も特異的，選択的性質をもつキレート試薬の探究が続けられているわけであるが***， ひるがえつて同一試薬によつて多数成分の定量を行いうることをこの試薬の特長と考えた場合，きわめて興味深い利用の道が開けてくるのではなかろうか．分析化学の発展は一面において多数の，また高価な機器，試薬を研究室に持ちこみ，ある面では分析体系の混乱をさえ来している今日，同一試薬による滴定操作によつてかなり多数の成分を分析することが出来れば，経費や時間の消費の面からみてもきわめて有意義なことと考えられる．もちろん特殊な，精密を要する分析には利用出来ない場合もありうるが，実用分析にあつては許容誤差範囲もかなり広く，おそらく在来法と同一の正確さ，もしくはそれ以上の正確さをもつて分析を行いうるものと思われる．すでに近藤[24] は珪酸塩分析において，今までの重量法を主とするJIS分析法を迅速化する意図で，Fe，Ti，Al，Mn，Ca，Mg，SO_4 の各成分をpHを順次調節して適当な指示薬を使用することによつて，EDTA試薬による同時滴定を行つて重量法と変らない正確さを得ているが，このような系統的分析もしくは直接的な成分定量だけでなく，間接的な補助手段としても本試薬を土壌肥料分析法（植物体分析も含めて）に利用することによつて，多少でも経費や時間の節約をはかるとともに，今までの方法では好ましい結果のえられなかつた分析法についても改良を加えようとするのが著者の試みである．もちろん土壌肥料分析法においてもこれまで EDTA 試薬の導入がしばしば試みられて興味ある結果がえられている．すなわち，他の領域とおなじくCa，Mg，Feなどの直接的な定量法については非常に多くの文献をあげることが出来るが[25−44]，そのほかでも，各種成分の抽出剤としての利用法が注目され，これまでの NH_4-acetate の代りにEDTA試薬を使用した土壌の置換容量の測定[45,46]，および可給態 Cu，Zn，Mo，Ca，Pの定量[47]，灰化しないで植物成分を抽出する方法[48]，さらには土壌燐酸および難溶性燐酸塩に本試薬を加えてその溶出度を測定する試み[49] など，特殊な研究の手段として使用されているのはきわめて注目すべきことである．土壌の物理的分析でも還元剤とともにEDTA試薬

を加えて遊離の Fe_2O_3 を除去する試み[50]や粒度分析で懸濁液の分散にあたつてCaを除くために本試薬を加えることは，かえつて膠質物の凝固をもたらすとの報告[51]などがみられ，一方肥料分析においても沸騰させたEDTA試薬で農業用石灰岩から抽出される Ca，Mg 量と同一石灰岩の土壌懸濁液中での反応との相関が非常に高いので，これによつて農業用石灰岩を化学的に評価する方法[52] などが試みられているが，これらはいずれも本試薬の使途をさらに拡大出来る可能性を示していると言えるのではなかろうか．そこで著者はこれら一連の EDTA 試薬の土壌肥料分析への利用方法を さらに 発展させる第一歩 として，今までほとんど重量法によつていた，多量に存在する燐酸の定量をEDTA試薬による定量法で完全に置き換えれるかどうかを検討してみることにした．

現在行われている燐酸定量法は，燐酸少量の場合は，燐モリブデン酸アンモンとして沈澱後 alkalimetry にもつてゆく方法と種々の還元剤を使用するモリブデン青比色法が主として行われているが，燐酸含量多量の場合には，上記比色法から発展した differential method があるにしても，従来からの，燐モリブデン酸アンモンとして沈澱後塩酸に溶かしてマグネシア混液で燐酸マグネシウムアンモンとして再沈澱する重量法が標準法として繁用されているのが現状である．この方法は二回の沈澱作成の操作を伴うので非常にわずらわしいのが欠点である．そこでこの方法にEDTA試薬をとり入れることによつて，1) Fe，Al，Caなどの妨害イオンを本試薬で mask しておいて直ちに燐酸マグネシウムアンモンの沈澱をつくり，2) 沈澱を灼熱して重量法によることなく，塩酸に溶解後 Mg の complexometry にもつてゆくこと，が出来れば操作はきわめて簡単になつてくる．この試みについてはすでに二，三の報文もあるが[53−59]，基本的な条件についてはまだ不充分な点もあり，ただちに土壌肥料分析に応用することは不可能であるので，著者は土壌肥料分析に利用する場合の基礎的条件の検討と，それに続いて過燐酸石灰中の全燐酸，水溶性燐酸の定量を行つて好結果を得たので，以下その結果について報告する．

なおこの実験を行うにあたつてたえず御指導と御鞭撻をたまわつた本学玉置腐彦教授，文献の閲読に御便宜を与えられた本学川村信一郎教授，ならびに実験上のことについて御助言を与えられた同仁堂上野景平博士に心から謝意を表わす次第である．

1 基 礎 実 験

1・1 試 薬

KH_2PO_4 溶液．KH_2PO_4 の計算量を水に溶かし，その一定量をとつて 重量法[60] で濃度を 決定した．4.953 mg P_2O_5/ml.

$CaCl_2$ 溶液．BANEWICZ，KENNER の方法[25] に従つて$CaCl_2\cdot 2H_2O$を二度再結晶後 $(NH_4)_2CO_3$で沈澱をつくり，洗滌後400°Cで4時間 ignite したものを出来るだけ少量の HCl (1：1) にとかして一定容とした．10.00mg CaO/ml.

$FeCl_3$ 溶液．メルク製分析用鉄線を HCl に溶かして調製した．濃度は $Fe(OH)_3$ として重量法で決定した．10．30mg Fe_2O_3/ml.

$AlCl_3$ 溶液．$AlCl_3\cdot 6H_2O$ より作成し重量法で濃度を決定した．9.54mg Al_2O_3/ml.

マグネシア混液．基礎実験用として $MgCl_2\cdot 6H_2O$ 50gとNH_4Cl 100g を水500mlに溶かし リトマスアルカリ性まで NH_4OH を添加して一夜放置後濾過しついでリトマス酸性まで HCl を加えて 1 L とした．本液 1 ml は 6.00 mg Mg を含有する (EDTA滴定で標定)．

0.05*M* $MgSO_4$ 溶液．BRUNISHOLZ et al．の方法[3] に従つて，$MgSO_4\cdot 7H_2O$ を本試薬5部，水1部の混合物を入れたデシケーター中で保存したもの6.1625g を精秤して水で1Lとした．

0.5 *M* EDTA 溶液．EDTA-2Na塩の溶解度は 14g/100gH_2O (40°C) 程度なので常温では完全に溶解しないので37.225g を水に懸濁させておいて NaOH 溶液を加えてゆき EDTA-4Na塩として溶解後200mlとした．f=0.9875．

EDTA滴定に使用した指示薬，緩衝液などはすべて現在常用されている方法[3] によつた．なお以上の試薬はいずれも特級品を使用した．

1・2 装 置

1・2・1 沈澱作成ならびに滴定の際の攪拌装置

重量法においては最初燐モリブデン酸アンモンとして，ついで燐酸マグネシウムアンモンとして二回の沈澱作

成操作をともなうが，特に二回目の沈澱作成の場合には器壁に触れないように烈しく攪拌する必要があり（燐酸マグネシウムアンモンの沈澱は器壁の傷に入りこむので器壁をこすることはもちろん，傷のある容器は使用出来ない），またEDTA法においては同じく燐酸マグネシウムアンモンの沈澱作成（この時は濾過，洗滌した沈澱を N HCl 溶液で元のビーカーに溶かしこむので器壁をこすつてもよく，むしろこの方が沈澱作成に有利である），ならびに滴定において攪拌をともなうが，いずれの場合も攪拌はすべて電動攪拌機によつた方が完全で，能率的であるので，著者は全操作を一本の攪拌棒で行えるように攪拌装置の改良を行つた（Fig.1）．

図のように肉厚ゴム管によつて脱着しうるように攪拌棒をとりつけたもので，最初の沈澱作成から最後の滴定まで一貫して一本の攪拌棒を使用出来るので，途中での誤差導入が少なくなり操作も一段と簡易化することが出来た．なお図のように曲つたガラス棒を沈澱の傾瀉洗滌，グラスフイルターへの移入に使用することは，真直なガラス棒よりむしろ使いよかつた．

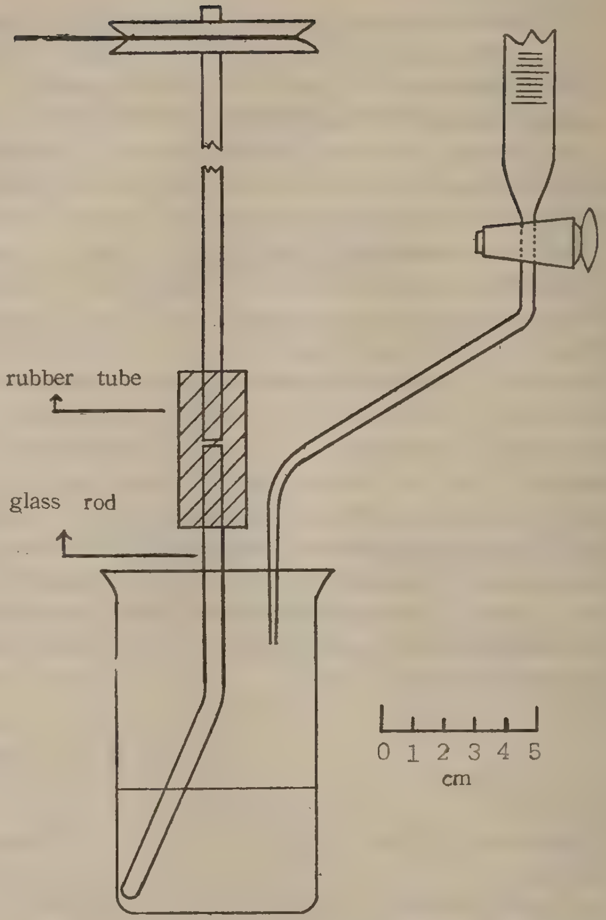


Fig. 1. Apparatus for stirring, in case of preparing precipitation and titration

1・2・2　沈澱の濾過，洗滌，溶解を一貫して行う装置

濾過はすべてグラスフイルターNo. 4によつて行つたが，通常の bell jar を使用する方法は洗滌終点の決定の際や受器の交換の際にきわめて不便であるので，著者は分液ロート型受器[62]をさらに改良してFig.2のような装置を考案した．

a－b－c－d－e－f が本体であつて，これを図のようにsetする．最初dをc－eに開いて濾過を始め，母液ならびに洗液はeを通して適当な瓶に流しこむ．洗滌がほとんど終つたころdを閉じて洗液の少量をcに集め，aは常圧にもどして（gはそのまま），dはc－fに開き，洗液を試験管にとつて終点を判定する．洗滌が終ればdを閉じてaを減圧にもどし沈澱に溶解剤を加えてc中に溶かしこむ．グラスフイルターをよく洗滌したのちaを常圧にもどしてdをc－fに開いて溶解液を元のビーカーに集め，あとb，cを軽く水で洗い同じく元のビーカーに加える．再びaを減圧にもどしdをc　eに開いて次の沈澱を濾過する．なおグラスフイルターの先はbに接近させて母液のはねかえりを出来るだけさけた．b，cの形も母液，洗液，溶解液の洗滌，流出を容易にするためのものである．この装置を使用することによつて濾過操作がきわめて能率的となつた．

1・3 操　作

KH_2PO_4 溶液の一定量をとつて N HClで酸性としたものにマグネシア混液の一定量を加えて加熱沸騰させ，フエノールフタレイン数滴を加えて攪拌装置で攪拌しつつ2.5％アンモニア水を徐々に滴下してゆく．一定時間放置

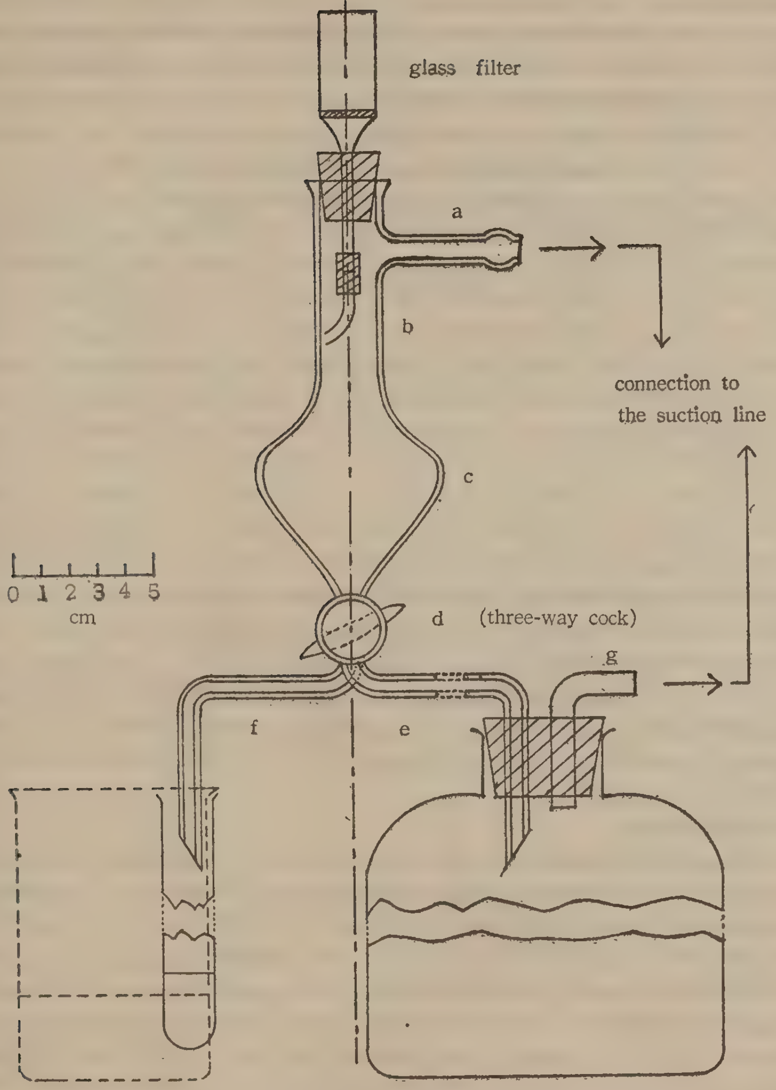


Fig. 2. Apparatus for filtration and solution of precipitate

後濾過し2.5%アンモニア水で充分洗滌する．洗滌の終点はCl^-反応の消失と EBT（pH10の緩衝液を加えて）による Mg^{2+} 反応（Mg^{2+} で赤色）とによつて決定した．沈澱は*N* HCl で元のビーカーに溶かしこみさらに水で洗滌して全量を約100mlとする．これに一定過剰量の0.1*M* EDTA溶液を加えて*N* NaOH 溶液で中和し，さらに緩衝液を加えて EBT を指示薬として，過剰の EDTA を0.05*M* $MgSO_4$溶液で逆滴定する．別に 0.1*M* EDTA溶液一定量をとつて上記に準じて滴定してブランク値とする．両滴定値の差に3.549を乗じてP_2O_5mg量とする．

1・4 $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ 沈澱作成時のアンモニア水添加量と沈澱の放置時間について

従来の沈澱作成では沈澱生成後過剰の濃アンモニア水を添加して放置することになつているが，妨害物質として Ca を含む場合は Ca-EDTA が pH 約7以上で定量的に生成するのでこの方法でも問題でないが，Feなどを含む場合にはこれらを EDTA で mask しておいても濃アンモニア水の過剰を加えることによつて直ちに demask されてコロイド状の沈澱となるので，EDTA を重金属の masking agent として使用する際には 過剰の 濃アンモニ

ア水の添加は不可能である．そこで上記定量操作に従つて，アンモニア添加量を変化させた場合の沈澱生成状態を検討した．またこの沈澱は過飽和状態になりやすいので[63]放置時間は常法で4時間以上となつているが，HUDITZ et al.[55]によると1～6 mgPの場合，沈澱生成に際して器壁を烈しくこすつてやれば放置時間を30分に短縮出来るとしているので，この点もあわせて検討した (Table 1).

Table 1. Effects of volume of NH_4OH added and time of standing on preparation of $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$

Expt. no.	P_2O_5 taken mg	Mg mixture added ml	2.5% NH_4OH added ml	Time of standing hr	P_2O_5 found mg	P_2O_5 found ⊿mg
1	49.53	8.4	excess of conc. NH_4OH	14	49.45	−0.08
2	〃	〃	〃	4	49.56	+0.03
3	〃	〃	〃	2	49.35	−0.14
4	〃	〃	〃	0.5	49.54	+0.01
5	99.06	16.8	〃	〃	98.78	−0.28
6	49.53	8.4	5	14	49.44	−0.09
7	〃	〃	5	0.5	49.38	−0.15
8	〃	〃	7	〃	49.61	+0.08
9	〃	〃	10	〃	49.30	−0.23
10	99.06	16.8	〃	〃	98.91	−0.15

表によればアンモニア水添加量の減少および放置時間の短縮ともに常法と有意的な差がなく，metal-EDTA の de-mask の心配のない程度の pH で沈澱をつくり，その放置時間も30分に短縮できることがわかつた．アンモニア水の添加にあたつては溶液中の NH_4Cl のため pH の上昇もかなりゆるいものであり，したがつてあまり厳密に規制する必要はなくフエノールフタレインの変色を指標とすれば充分である．また沈澱作成の際に沸点まで加熱しているので，放置時間を短縮する場合には当然急速に冷却してやる必要があり，上記の実験でも室温（8°C）まで冷却後規定の放置時間を経過させたわけである．この時間の短縮は器壁を烈しくこするので，沈澱を完全に濾紙上に移す必要のある重量法にはもちろん適用出来ない．

1・5 マグネシア混液の添加量

燐酸を完全に沈澱させるに必要なMg理論必要量は P_2O_5 100mgに対して Mg 34.27mgであり，大過剰の添加は誤差を生じるとされているので，厳密を要する時には一度やや過剰を加えて沈澱をつくり，これを HCl に溶解後，沈澱の溶解を押える程度のごく少量のMg量を追加して再沈澱を行つているが[60]，ただ一回の沈澱にとどめる時でも理論値の1.3～10.3倍[64]，3～8倍[57]などの文献があり，かなり広い範囲が許されるようである．妨害物質を mask するために EDTA を加えた場合，妨害物質量が正確にわかつておればそれと当量の EDTA を加えることが出来るが，一般には正確な含量の不明な場合が多く，EDTA を必要以上に添加して mask するので EDTA の過剰分だけが後に加えられるマグネシア混液中の Mg を消費することになる．従つてマグネシア混液の添加量は予め一定の範囲をもたせて過不足の生じないようにする必要があるので，マグネシア混液添加量を種々に変えて上記方法に従つて，燐酸を完全に沈澱させ，かつ誤差の導入されないような添加量範囲の決定を行つた (Table 2).

Table 2. Effect of volume of Mg mixture added as precipitant

Expt. no.	P_2O_5 taken mg	Mg mixture* added ml	Mg mixture* per theo. value	P_2O_5 found mg	P_2O_5 found ⊿mg
1	49.53	8.4	3-fold	49.40	−0.13
2	〃	11.2	4	49.53	±0.00
3	〃	14.0	5	49.25	−0.28
4	〃	16.8	6	49.55	+0.02
5	〃	19.6	7	49.70	+0.15
6	〃	22.4	8	49.44	−0.09

*One ml of Mg mixture contains 6.00mg of Mg, and is equivalent to 17.52mg of P_2O_5.

これによれば実験範囲内では添加量による差はみられなかつた．マグネシア混液の実際の場合の添加量については，後にのべる妨害物質の EDTA による mask の項であわせて論述する．

1・6 妨害物質の masking agent としての EDTA

$MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$の沈澱生成にあたつては限度以下のアルカリ金属イオン以外のほとんどすべての金属イオン，ならびに許容範囲以上の citrate，oxalate イオンなどが妨害物質としてあげられている．従来はこれらの妨害イオンの存在するときには，まず燐モリブデン酸アンモンとして燐酸を分離するのが普通であるが，NH_4-citrateを masking agent として共存させて直ちに $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ の沈澱をつくる方法も提唱され，前法に較べて簡単であり正確度も同一であるとされている[60]．NH_4-citrate はもちろん Ca，Fe，Al などと chelate をつくつて，それらを沈澱生成系外に除く仂きをもつもので，これと同じ性質のものとしては当然 EDTA が考えられ，HUDITZ et al.[55]は燐酸定量にあたつて Ca，Ba，Sr，Fe，Al，Cu，Ni，Mn，Cd，Zn，Ti などの mask を EDTA で行つて良好な結果を得ている．ただ$MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$の沈澱作成がアルカリ側で行われるので，この時の pH で metal-EDTA の錯生成定数がどんな変化を来すかについては充分知つておく必要がある．HUDITZ et al. も EDTA を masking agent として使用した時には沈澱作成に際して過剰の濃アンモニアの添加はよくないとしているが，はつきりした限界は与えていない．土壌肥料分析における燐酸定量の際に，妨害イオンとして特に予想されるのは Ca，Fe，Al などであるが，このうち Ca は上述つようにアルカリ側で充分安定な chelate をつくるが，Fe，Al についてはアルカリの程度によつては demask を予想される．そこで実験**1・4**の結果から濃アンモニア水を過剰に添加しなくても沈澱が充分完成されることを確めることが出来たので，これと同じ条件で EDTA による Ca，Fe，Al のmaskを検討して，Ca にあつてはこの程度のアルカリ性で充分 mask され，Fe，Al にあつてはこの程度のアルカリ性では demask がみられず完全に mask されることを確認した (Table 3)．

Table 3. Masking of foreign substances with EDTA

Expt. no.	Foreign substance kind	Foreign substance mg	P_2O_5 taken mg	EDTA added 0.4838*M* ml	Mg mixture added ml	P_2O_5 found mg	P_2O_5 found ⊿mg
1			49.53		8.4	49.50	−0.03
2			〃		〃	49.45	−0.08
3	CaO	50.00	〃	1.80	〃	49.56	+0.03
4	〃	100.00	〃	4.00	10.0	49.42	−0.11
5	〃	150.00	〃	11.40	21.0	49.33	−0.20
6	Fe_2O_3	10.30	〃	0.35	9.0	49.58	+0.05
7	〃	20.60	〃	1.00	12.0	49.55	+0.02
8	〃	61.80	〃	5.00	18.0	49.44	−0.09
9	Al_2O_3	28.62	〃	2.00	11.0	49.53	±0.00
10	〃	47.70	〃	5.00	15.0	49.32	−0.21
11	CaO Fe_2O_3 Al_2O_3	150.00 20.60 28.62	〃	7.50	10.0	49.63	+0.10
12	CaO Fe_2O_3 Al_2O_3	100.00 61.80 47.70	99.06	10.00	15.0	98.93	−0.13
13*	Fe_2O_3	20.60	49.53	1.00	12.0	48.98	−0.55

* As the washing agent, 1.89% NH_4OH+5% NH_4Cl solution was used.

表には示されてないが，Fe，Al 存在時に過剰の濃アンモニア水を添加した場合，直ちに水酸化物の沈澱を生成するのがみられた．また Fe-EDTA 含有母液に洗滌液として2.5% アンモニア水 (pH 約11.4) が混入してゆく際，Fe-EDTA がアンモニア水の濃度の高い接触部から漸次解離してゆくことが観察されたが，このことより沈澱作成にあたつては攪拌を充分にして2.5%アンモニア水の添加をゆつくり行い，Fe-EDTA が局部的に demask されるのを防ぐとともに，濾過の際には沈澱作成ビーカの母液を充分きつてから洗滌液を加えて Fe-EDTA の demask を防ぐことが必要と考えられる．これに関連して洗滌液として2.5%アンモニア水の代りに1.89%NH_4OH+5%NH_4Cl 溶液 (pH約8.0) を使用して Fe-EDTA の demask を押えることを試みたが，Table 3，Expt. No.13

のように結果がやや低値となつた．これは2.5%アンモニア水に較べて沈澱の溶解度がかなり大きいので[65]，その結果であろう．また $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ の沈澱操作を一回に止めるときは熱溶液の方が純粋な結晶を得やすいので，著者もこの方法で沈澱を作つたが，この加熱操作が metal-EDTA の安定度に影響をおよぼすことはなく，**** 上記実験条件の中，マグネシア混液の代りに同一量の NH_4Cl を加えたものを長く沸騰させても Fe-EDTA の解離による $Fe(OH)_3$ の沈澱は全くみられなかつた．

以上のことより沈澱作成に際して過剰の濃アンモニア水を加えない限り，EDTA は masking agent として優れていることがわかつたが，実際に妨害イオンを mask する場合には，1・5 でのべたように常に必要量より過剰の EDTA を添加することになり，この過剰の EDTA がマグネシア混液中の Mg を消費するので，この両試薬の添加量の決定には注意しなければならない．もつとも土壌肥料分析の場合には極端な試料を除いては妨害イオンの概略の値は予想出来るので，マグネシア混液添加許容量にかなり広い巾のあることとあわせて，試薬添加量の決定はかなり容易である．たとえば P_2O_5 50mg を含有する試料の場合にはマグネシア混液（6.00mg Mg/ml）の理論必要量は 2.86ml（17.14mg Mg）となり，添加量はその8倍の22.85ml（137.08mg Mg）でも差支えないわけで，この場合かりに 0.5 *M* EDTA溶液 7.04ml が過剰に存在してマグネシア混液中の Mg を消費しても，なお残留 Mg が理論必要量の3倍あることになり，$MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ の沈澱生成は定量的に進行するわけである．この 0.5 *M* EDTA 溶液 7.04ml は，たとえば CaO では 197.40mg を充分 mask する能力があるので，一般の土壌肥料分析では妨害イオンの推定値で EDTA 過剰量を加えても，EDTA ならびにマグネシア混液の添加量に不足または過剰を来すことはまずありえないと考えられる．

1・7 $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ の HCl 溶解液の滴定と滴定誤差

$MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ の沈澱を *N* HClで溶かしてEDTA 滴定を行うにあたつては妨害イオンは PO_4^{3-} のみで，他の実用分析における EDTA 滴定に較べて非常に容易である．Mg を EDTA で滴定する場合の PO_4^{3-} の妨害についてはすでに多くの人によつてとりあげられ，その除去法についても提案されているが[39,44,67-69]，$MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ 溶解液の場合には，Mg が少量であれば直接 EDTA で滴定しても妨害がなく[55]，多量の場合にはまず一定過剰量の EDTA を加えておいて，過剰の EDTA を標準 $MgSO_4$ 溶液で逆滴定すれば問題がないようである．加藤等は逆滴定でも PO_4^{3-} 多量の時は滴定の際に $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ の沈澱が析出して液が濁り，終点が不明確となるので，30〜40°C に加温して滴定すれば好結果がえられるとしているが，著者の実験では，50mg 程度の燐酸を採取した時には加温しなくてもほとんど終点に影響がなかつたようであるが，100mg程度では冷却につれて明らかに沈澱の生成が認められた．

次にpH 10 の緩衝液の添加にさきだつて溶液の中和が行われるが，HUDITZ et al.[55]はこの際メチールレッドのごく微量を加えてアンモニア水で中和しているが，メチールレッドが少しでも多く加わると EBT の終点が非常に不明確になるので，燐酸含量に応じて，溶解用 *N* HClの添加量とその過剰を中和するに必要な *N* NaOH 溶液量をあらかじめ測定しておけば，その後の中和に便利である．

本法の誤差については，沈澱作成までの誤差はすべて重量法と同一と考えられるが，EDTA 滴定の操作では別の誤差が導入されてくる．EBTを指示薬とする滴定では妨害イオンが存在すれば終点の判定が困難となつてバラツキの大きい誤差が起つてくるが，妨害イオンのない場合でも当然滴定にともなう誤差が入つてくる．HUDITZ et al.[55]が直接法によつて1〜6 mg P の試料について行つたところではEDTA滴定液の過剰の結果，一体に正の誤差をともなつたものが多く，約100mg PO_4の試料について逆滴定法で行つた加藤等[57]の結果では，Mg 滴定液過剰のためほとんどが負の誤差を生じている．従つて直接滴定・逆滴定を問わず，滴定液の過剰が本法における誤差の主な原因と考えられる．この滴定液の過剰は，EDTA と金属イオンの反応が終点附近ではやや緩やかになり，EBT の変色に影響をおよぼすと共に，EBT の変色そのものが充分鋭敏であるとは言つても1滴程度の判定がかなり困難なことによるためと思われるので，本実験では終点附近では滴定液の添加を注意して行い，EBT の添加量も正確に一定量とするとともに，最初に0.1*M* EDTA溶液を0.05*M* $MgSO_4$溶液でブランク滴定し，引続き供試液の滴定を行つてその終点を出来るだけブランクの場合の色調に合すようにしたが，これによつて滴定だけの誤差はほとんど 0.01〜0.02ml 程度に止めうるようであつた．ただこの時，EBT指示薬はアルカリ溶液中では不安定なため，褪色がかなり早いことに注意しなければならない．いずれにしてもこの程度の誤差は滴定液1滴を約0.03mlとすれば，0.05 *M* $MgSO_4$溶液では約0.106mg P_2O_5程度となり，比較的多量の燐酸（50〜100mg P_2O_5）を定量する場合には，ま

ず重量法での誤差と同程度のものである．なお滴定液をうすめることによつてこの種の誤差はかなり小さく出来るわけであるが，それだけ終点の判定が困難になるので，著者は0.1M EDTA，0.05M $MgSO_4$の各溶液を採用した．また燐酸含量がほとんど一定している場合は，過剰の EDTA 添加量を出来るだけ少過剰に止めて，ミクロビユーレツトを使用すればさらに小さい誤差で定量を行える．このほか光度滴定法によれば，0.01 M 溶液で relative error 0.04%以下，0.005 M溶液で0.1%以下で行えるとの報告もある．

2 過燐酸石灰中全燐酸および水溶性燐酸の定量

以上の実験の結果に基いて次の定量法を提案した．使用試薬はすべて基礎実験のものをそのまま使用し，比較のために行つた重量法の試薬は常法[61]に従つて作成した．

2・1 定量法

2・1・1 全燐酸の定量法

試料2.5〜5gに HCl 30mlと$HNO_3$10mlを加え時計皿をかぶせ30分間煮沸し，冷却してから水を加えて250〜500 mlとし，よく混合してから乾燥濾紙で濾過して供試液とする．この液 25〜50ml をビーカーにとつて 0.5 M EDTA溶液3〜5mlを加え，つぎにマグネシア混液15mlを加える．これにメチールレツド1，2滴およびフエノールフタレイン数滴を加えて，溶液を沸騰するまで加熱し，Fig. 1 の攪拌装置で攪拌しながら溶液が黄変するまで2.5%NH_4OH を加えてゆく．黄変してからは攪拌棒で器壁を烈しくこすりながら NH_4OH の滴下をゆつくり行い，溶液が白濁しはじめれば，一時 NH_4OH の滴下をやめて攪拌を続け結晶を充分析出させる．沈澱が結晶状となつたら，さらに溶液が明らかにフエノールフタレインの赤色を呈するまで NH_4OH を滴下する．滴下が終れば攪拌棒をはずしてビーカーの中に入れたまま，溶液を冷却してから30分間放置し，沈澱はFig.2 の装置で濾過する．母液を充分きつたのち，濾液がCl^-反応を呈しなくなるまで2.5% NH_4OH で充分洗滌し，N HCl 10ml で沈澱を元のビーカーに溶かしこみ，さらに水でグラスフイルターを洗滌して全液量を約100mlとする．一定少過剰の0.1 M EDTA 溶液を燐酸がP_2O_5として 50mg程度の時は10ml，100mg程度の時は15mlを加え，N NaOH溶液で中和後緩衝液（pH10）5mlを加えて湯煎中で30〜40°Cに加温し，KCN微量，EBT 指示薬3滴を加える．攪拌棒を攪拌機にセツトしたのち，攪拌しながら0.05M $MgSO_4$溶液で逆滴定する (B ml)．別に0.1M EDTA溶液一定量（上記添加量と同一量）をあらかじめ同じ操作で滴定しておく（A ml）．燐酸含量は次式によつて計算される．P_2O_5 = 3.549mg×(A−B)

2・1・2 水溶性燐酸の定量法

試料5gを500mlの定容フラスコにとり，17.5°Cの蒸溜水約400ml を加え，回転振盪器で1分間30〜40回転で30分間振盪し，つぎに水を標線まで加えてよく混合し乾燥濾紙で濾過する．濾液50mlをとつて全燐酸定量法に従つて定量する．

2・2 定量結果

上記の定量法に従つて二，三の試料を分析した結果は次の通りであつた (Table 4)．

試料ならびに分析回数のやや少ないうらみはあるがこの結果から本法が重量法の簡便法として用いられる可能性は充分推察出来る．

Table 4. Determination of total and water soluble phosphates in calcium superphosphates

Sample*	Gravimetry P_2O_5 %	This method P_2O_5 %	Difference
TP-1	17.90	17.83	−0.03
	17.85	17.87	
	17.79	17.75	
	av. 17.85	17.82	
TP-2	21.49	21.55	+0.10
	21.36	21.50	
	av. 21.43	21.53	
WP-1	16.52	16.48	−0.07
	16.58	16.44	
	16.50	16.46	
	av. 16.53	16.46	
WP-2	19.69	19.63	−0.03
	19.56	19.57	
	av. 19.63	19.60	

*TP=total phosphate
WP=water soluble phosphate

3 考察ならびに結論

本実験の結果によつて一応比較的多量の燐酸を重量法とほぼ同一の正確度で定量しうることが確かめられたが，これによつて分析時間の短縮と操作の簡易化が実現されるわけである．すなわち，重量法が二回の沈澱作成とそれにともなう長い放置時間を必要とするのに対して，本法では沈澱作成は一回

でよく，また沈澱を完全に回収する必要がないので，器壁をはげしくこすつて沈澱を促進出来るので放置時間もはるかに短縮することが出来る．さらに重量法の，$MgNH_4PO\cdot 6H_2O$の沈澱を完全に濾紙上に移し$Mg_2P_2O_7$まで灼熱する操作に較べれば，濾過—洗滌—溶解を減圧下で迅速に行つて容量法にもつてゆく本法は，労力，時間ともにはるかに経済的なことはいうまでもない．一分析あたりの単価について較べてみても，両法とも最も高価な試薬を多量に必要とする，妨害イオンの分離の段階において，重量法ではモリブデン酸アンモン溶液 50ml を使用するものとして約27円，本法では 0.5*M* EDTA溶液 5 ml を使用するものとして約24円（いずれもカタログの価格による）となり，さらに他の操作では試薬使用量は本法が少ないので分析費用の点からも本法がかえつて経済的であると考えられる．本法で用いられる試薬が長期間の保存に割合安定なことも特長の一つとしてあげられ，他の定量法ではよく試薬の保存期間の問題がおこつてくるが，この点連続的に燐酸の定量を行わないような研究室においても本法の試薬を常備試薬として保存することが可能である．EDTA 試薬の保存期間については二，三の報告があるが，BLAEDEL および KNIGHT(70)によると硼珪酸ガラスまたはポリエチレン製瓶に保存した場合，5ケ月後に滴定値で0.05%の変化があつたのみである．この結果が特別な場合であるとしても，常備のHCl，NaOH などの規定液の濃度確認期間とほぼ同じに扱つてよいのではなかろうか．ただ EBT 試薬については粉剤のままではきわめて安定であり，溶液でも塩酸ヒドロキシルアミンと混ぜてアルコールに溶かしたものは約3ケ月は有効とされているが，連続的に使用しない場合は，その度に少量あて調製した方が無難であろう．

以上のように本法は一応このままでも実用的な方法として使用出来るが，妨害イオンの mask については，さらにスルフオサルチル酸，トリエタノールアミン，CyDTA などが考えられる．たとえば CyDTA（1,2—シクロヘキサンジアミン四醋酸）は EDTA よりキレート生成定数高く，アルカリ側でも Fe^{3+}-chelate をつくり，またトリエタノールアミンは強アルカリ性溶液中で Fe^{3+}，Al^{3+}，Mn^{3+}などと安定な chelate をつくり，すでに Ca，Mg の complexometry 時の maskimg agent として使用されているが(70)，現在かなり高価なものなので（CyDTA で5g が2,000円），多量の妨害イオンの存在する場合には未だ問題があると考えられるので，これらの点については今後の研究にまちたい．

4 要　　約

過燐酸石灰中全燐酸および水溶性燐酸を，EDTAの存在下で $MgNH_4PO_4\cdot 6H_2O$ として分離沈澱したのち，沈澱中の Mg を EDTA 滴定することによつて間接的に定量する方法を試みて次の結果を得た．

1) 沈澱完成のための放置時間は攪拌棒で器壁を烈しくこすつて沈澱の生成を促進すれば冷却後30分で充分であつた．
2) 妨害イオンはEDTA によつて mask 出来るが，その demask をさけるため沈澱母液に過剰のアンモニア水を加えないのがよく，そのために沈澱完成に影響を与えることはなかつた．
3) 攪拌装置（Fig. 1）および濾過装置（Fig. 2）を考案して，操作をさらに迅速かつ簡易にすることが出来た．
4) その他，各試薬の添加量，滴定条件と滴定誤差，分析費用などについて若干の考察を行つた．
5) 本法の結果は重量法とよく一致した．

* C. A. Index 命名法はAcetic acid，(ethylenedinitrilo)tetra- である．市販品としてはドータイト試薬（同仁堂），ETA試薬（関東化学），クレワット（長瀬産業），2Na-EDTA（東京化成），その他外国では Versene，Versenate，Sequestrene（以上アメリカ），Complexon，Trilon B（以上ヨーロツパ）などがある．

** 一例として無機成分として現在 EDTA 試薬で直接的，間接的に定量の行われているものには，Na，Mg，Ca，Sr，Ba，Ag，Cu，Zn，Cd，Hg，Al，In，Th，Tl，Zr，Pb，Bi，Mn，Fe，Co，Pd，Ni，Ga，Cr，WO_3，UO_2，S，SO_4，PO_4，Halogen，NCS，CO_2 などがあり，また有機成分としては還元糖，カルボキシル基などがある．EDTA およびその他のキレート試薬による滴定法は SCHWARZENBACH によつて Komplexometrie，PRIBIL によつて chelatometry とよばれて体系ずけられている．

*** たとえばFe の場合，Fe-EDTA の最も安定なのは pH4〜5 の領域であつて，アルカリ側に傾くと Fe-EDTA は $Fe(OH)_3$ にまで解離される．この欠点を補うものとして考えられたのが EDTA の hydroxylated derivate である N-hydroxyethyl-EDTA（Versen-ol），N，N′-dihydroxyethyl-EDTA（Versene-diol）などで，これら

は非常に安定な1：1 chelate をつくつて，強アルカリ性でも加水分解に対して安定である (CHABEREK, S., Jr., BERSWORTH, F. C. : *Science*, **118**, 280 (1953)).

**** この点については同仁堂上野景平博士の御教示を頂き，CARVIN, M., MARTELL, A.E. : *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2135 (1954) の文献を教えて頂いた。

参 考 文 献

(1) SCHWARZENBACH, G., BIEDERMANN, W., BANGERTER, F. : Komplexon VI. Neue einfache Titriermethoden zur Bestimung der Wasserhärte. *Helv. Chim. Acta.*, **29**, 811 (1946).

(2) ―――――― : Die Komplexometrische Titration. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgard (1955).

(3) 上野景平 ： キレート滴定法， 東京， 南江堂 (1956)

(4) ――――：Schwarzenbach 氏の水質硬度測定法. 化学の領域，**5**，481 (1950).

(5) BIERMANS, T., HENRARD, P. : Ethylenediaminetetraacetic acid. *Industrie chimique*, **39**, 6 (1952); *C.A.*, **47**, 1606d (1953).

(6) DELVAUX, E.L. : Versenes, new organic complexing agents. *J. pharm. Belg.*, **7**, 505 (1952); *C.A.*, **47**, 8634h (1953).

(7) 水谷三郎 ： ETA の輝ける功績. *Chemical Times*, p. 149 (1952).

(8) SOUCHAY, P., GRAIZON, M.: Analytical and industrial applications of the remarkable complexing properties of the Trilons. *Bull. soc. chim. France*, **1952**, 34 ; C.A., **46**, 6030g (1952).

(9) 上野景平，山口靖人 ： エチレンヂアミンテトラ醋酸の分析化学への応用― Schwarzenbach 法のその後の進展. 化学の領域，**6**，670 (1952).

(10) JONCKERS, M. D. E. : Complexometric determination of calcium and magnesium in calciferous and magnesium materials. *Chim. anal.*, **35**, 101 (1953) ; C. A., **47**, 7365g (1953).

(11) KOROS, E. : Significance of the formation of chelate complexes in analytical chemistry. I. complexometric titrations. *Magyar Kem. Lapja*, 8, 193 (1953) ; *C. A.*, **48**, 74i (1954).

(12) PRIBIL, R. : Complexometric titrations. I. Survey and Introduction. *Chem. Listy*, **47**, 1173 (1953).

(13) RINGBOM, A., SANDAS, P. : Titrations of metals with ethylenediaminetetraacetic acid. *Finska Kemistsamfundets Medd.*, 62, 13 (1953) ; *C.A.*, **48**, 1195g (1954).

(14) BROWN, E.G. : Application of complexons in metallurgical analysis. *Metallurgia*, **49**, 101, 151 (1954).

(15) MARTELL, A. E., CHABEREK, S. : Use of chelating agents as reagents in titrimetric analysis. *Anal. Chem.*, **26**, 1692 (1954)

(16) 武藤義一，和田芳裕：Komplexometrie (Schwarzenbach法). 分析化学，**3**，173 (1954).

(17) SCHMITZ, B. : New volumetric methods of analysis for the pharmaceutical laboratory. *Deut. Apoth. Ztg. ver. Süddent. Apoth. Ztg.*, **94**, 532 (1954) ; *C. A.*, **48**, 11003b (1954).

(18) 早川久雄 ： EDTA を用いる分析化学．最新の分析化学，No. **7**，48 (1955).

(19) 水町邦彦，本田雅健 ： EDTA 及その類似物質について. 化学の領域，**9**，223，354 (1955)

(20) 新村陽一 ： EDTA の配位化学. 化学，**10**，868 (1955).

(21) 音在清輝 ：EDTA の分析への応用のための基礎的研究. *ibid*，**10**，874 (1955)

(22) 山本勇麓 ：錯滴定法の基礎. 分析化学，**5**，239 (1956).

(23) 同仁堂 ： Dotite News Letter, No. **6**, 2 (1955).

(24) 近藤連一 ：EDTA 同時滴定による珪酸塩分析体系. 日本分析化学会講演会 (1956)

(25) BANEWICZ, J. J., KENNER, C. T. : Determination of calcium and magnesium in limestones and dolomites. Application of the ethylenediamine tetraacetic acid method. *Anal. Chem.*, **24**, 1186 (1952).

(26) CHENG, K.L., KURTZ, T., BRAY, R. H.

: Determination of calcium, magnesium and iron in limestone by titration with Versenate. *Anal. Chem.*, **24**, 1640 (1952).

(27) COREY, R.B., JACKSON, M. L. : Silicate analysis by a rapid semimicrochemical system. *Anal. Chem.*, **25**, 624 (1953).

(28) JORDAN, J. W. : Determination of calcium and magnesium in limestones by ethylenediaminetetraacetate. *Chemistry & Industry*, **1953**, 687; *C. A.*, **47**, 10401d (1953).

(29) GEHRKE, C.W., AFFSPRUNG, H.E., LEE, Y. C. : Direct ethylenediamine tetraacetate titration methods for magnesium and calcium. *Anal. Chem.*, **26**, 1944 (1954).

(30) PERKINS, A, T., MERRILL, J. F., IDLEBURG, J. B.: EDTA as an analytical reagent to evaluate agricultural liming materials. *J. A. O. A.C.*, **37**, 971 (1954); *C. A.*, **49**, 2248d (1955).—HOFFMAN, W. M., SHAPIRO, H. : Some observations on the Versenate method for calcium and magnesium in agricultural liming materials. : *ibid.*, **37**, 966 (1954); *C. A.*, **49**, 2249f (1955).

(31) CHENG, K. L., BRAY, R. H. : Determination of calcium and magnesium in soil and plant material. *Soil Sci.*, **72**, 449 (1951)

(32) ————, MELSTED, S. W. : Removing interfering metals in the Versenate determination of calcium and magnesium. *Soil Sci.*, **75**, 37 (1953).

(33) ———— , BRAY, R. H., KURTZ, T. : Determination of total iron in soils by disodium dihydrogen ethylenediamine tetraacetate titration. *Anal. Chem.*, **25**, 347 (1953).

(34) 伊藤正夫，稲松勝子 : EDTA 試薬による土壌の置換性カルシウム，マグネシウムの定量について．蚕糸研究，No, **6**, 10 (1953).

(35) 星川玄児 : EDTAによる Fe^{3+}, Fe^{2+} 混合溶液中両者の分別定量について．分析化学，**4**, 582 (1955).

(36) SMITH, J. B., OLNEY, C. E. : Report on magnesium in fertilizers. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **35**, 663 (1952); **36**, 628 (1953); *C. A.*, **47**, 2917i (1953); **48**, 9001a (1954).

(37) BERKHOUT, H. W., GOOSENS, N. : Determination of calcium and magnesium in lime and magnesium-lime fertilizers. *Chem. Weekblad*, **43**, 580 (1953); *C. A.*, **47**, 6080f (1953).

(38) SMITH, J. B. : Magnesium and manganese in fertilizers. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **37**, 331 (1954) ; *C. A.*, **48**, 9602c (1954).

(39) 拓植利久，吉田 環 : EDTA 滴定法による蛇紋過燐酸中の有効性苦土の定量について．土壌肥料，**27**, 410 (1957)

(40) GASTLER, G. F. : The use of Versenate for the determination of calcium and magnesium in water and plant materials. *Proc. S. Dokota Acad. Sci.*, **28**, 77 (1949) ; *C.A.*, **45**, 7911 (1951).

(41) WILLSON, A.E. : Volumetric determination of calcium and magnesium in leaf tissue. *Anal. Chem.* **22**, 1571 (1950).

(42) MASON, A. C. : Determination of small amounts of calcium in plant material. *Analyst*, **77**, 529 (1952).

(43) FORSTER, W. A. : Magnesium determination in plant materials. *Analyst*, **78**, 179(1953).

(44) MCCALLUM, E. S. R., SMITH, A. M. : Determination of calcium and magnesium in plant material using EDTA. *Anal. Chem.*, **27**, 1260 (1955).

(45) PERKINS, A.T. : Determination of cation-exchange capacity of soils by use of "Versenate". *Soil Sci.*, **74**, 443 (1952).

(46) 伊藤正夫，稲松勝子 : EDTA 試薬による土壌の置換容量の測定について．蚕糸研究，No. **6**, 16 (1953)〔この報告は土壌肥料，**25**, 245 (1955)にも掲載されている〕.

(47) VIRO, P. J. : Use of ethylenediamintetraacetic acid in soil analysis. I. Experimental. *Soil Sci.*, **79**, 459 (1955) ; II. Determination of soil fertility. *ibid.*, **80**, 69 (1955).

(48) BAUSERMAN, H. M., OLSON, R.F. : Analyses of plant materials using EDTA salt as solubilizers. *J. Agr. Food Chem.*, **3**, 942 (1955).

(49) 古井寛良，上田晋之助 : 土壌燐酸並に難溶性燐酸塩の易溶化について—EDTSA 添加による燐酸の溶出．日本土壌肥料学会関西支部講演会 (1954).

(50) AQUILERA, N.H., JACKSON, M.L. : Iron oxide removal from soils and clay. *Soil. Sci.*

Soc. Am. Proc., **17**, 359 (1953).
(51) FREI, E., SCHÜTZ, E. : The dispersion of soil suspension with complex soils in particle analysis. *Landw. Jahrb. Schweiz.* (*N.S.*), **2**, 563 (1953) ; *C.A.*, **48**, 7237 (1954).
(52) GIBALY, H. E., AXLEY, J. H. : *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **19**, 301 (1955)
(53) FLASCHKA, H., HOLASEK, A: *Mikrochemie ver. Mikrochim. Acta*, **39**, 101 (1952).
(54) ————, ———— : *Z. f. physiol. Chemie*.
(55) HUDITZ, F., FLASCHKA, H., PETZOLD, I. : Die Fällung des Phosphat-ions mit Magnesium neben Calcium-und anderen Metall-Ionen, sowie seine massanalytische Bestimung mit Äthylendiamintetraessigsäure. *Z. anal. Chem.*, **135**, 333 (1952).
(56) LORENZI, F. D., ALDROVANDI, R. : Volumetric determination of phosphorus in phosphates, glycerophosphates, and lecithin with complexon III. *Farm. sci. e tec.*, **7**, 309 (1952) ; *C. A.*, **46**, 11036b (1952).
(57) 加藤多喜雄，萩原善次，篠沢亮二郎，塚田尚吾：燐酸塩の分析化学的研究（第１報）Pyro-，Ortho-燐酸塩の新容量法．分析化学，**4**，84（1955）．
(58) ————，————，：———— ：同上（第2報）オルトおよびメタ燐酸塩類の共存におけるピロ燐酸塩の新容量法．*ibid.*，**4**，486（1955）．
(59) 秋山知行，藤原光雄，岡本久良，狩阪和子：ポリ燐酸塩の分析化学（1）．京都薬大，**3**，19（1955）．
(60) KOLTHOFF, I. M., SANDELL, E. B. : Textbook of quantitative inorganic analysis, 3rd ed., p. 337, New York, Macmillan Co. (1955).
(61) 東大農学部農芸化学教室編：実験農芸化学（上），P．74，東京，朝倉（1952）．
(62) 神森大彦：沈澱の新迅速濾過法について．分析化学，**2**，467（1953）
(63) KOLTHOFF, I. M., SANDELL, E. B. : (60), p. 352.
(64) 西田伝五郎：定量分析実習指針，3rd ed.，p. 182，東京，丸善（1950）
(65) 高木誠司：定量分析の実験と計算，2nd ed.，I，230，東京，南条（1950）．
(66) (61)，p. 12.
(67) (3)，p. 112，114，146.
(68) COLLIER, R. E. : Extraction of phosphates prior to EDTA titration of calcium and magnesium. *Chemist Analyst*, **43**, 41 (1954) ; *C. A.* **48**, 9269i (1954).
(69) HUBER, F., SCHMIED, O. : Determination of water hardness by a complexometric method. *Mitt. Versuchssta. Gärungsgewerbe*, **8**, 128 (1954), *C. A.*, **49** 1996 (1955).
(70) BLAEDEL, W. J., KNIGHT, H. T. : Purification and properties of disodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid as a primary standard. *Anal. Chem.*, **26**, 741 (1954).
(71) (3)，p. 105，227.

Résumé

In place of the gravimetric procedure for the determination of total-and water soluble-phosphates in calcium superphosphates, the rapid volumetric method was developed, in which the precipitate of $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ prepared under masking of interfering substances with 0.5*M* EDTA solution was dissolved with *N* HCl, and after addition of the excess of 0.1*M* EDTA solution, the back titration with 0.05 *M* $MgSO_4$ solution was followed.

In this method, the excess of concentrated NH_4OH should not be added with a view to preventing the demasking of Fe-EDTA in a strong alkaline solution. Yet the preparation of $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$ is carried quantitatively under such condition. Only 30 minutes is required for standing of the precipitate, as a result of scrubbing the wall violently with a stirring rod. If the apparatus for stirring and filtration designed with author (Fig. 1, 2) are used, the time required for analysis is more reduced. Both the precision and the accuracy of this method are equal to them of the gravimetric method.

STUDIES ON LEGUME STARCHES

II Viscosity Behaviors*

Sin'itirô KAWAMURA (Laboratory of Biological Chemistry) and Hiroyasu FUKUBA**

(Received April 27, 1957.)

Viscosity is one of the most important physical properties of starches from the viewpoint of practical application as well as from scientific interest. Starches were prepared from typical Japanese food legumes by the method described previously by KAWAMURA, TUBOI, and HUZII [3]. They were studied by the BRABENDER amylograph [1,2] at Faculty of Home Economics, Ochanomizu University, Tokyo. The intrinsic viscosity and alkali lability number were measured at Faculty of Agriculture, Kagawa University.

EXPERIMENTAL

Materials Used As the raw material nine food legumes described previously were used. Some legumes were not available in the course of later experiments, while some other garden varieties were added. Thus for clearance sake the Latin, English, and Japanese names for the legumes are given in Table 1. In some cases potato starch was used as the standard sample for comparison of the data obtained.

Table 1. Materials used.

No.	Latin	English	Japanese
0.	*Solanum tuberosum*	potato	*zyagaimo* or *bareisyo*
1.	*Vicia faba*	broad bean	*soramame*
2.	*Pisum sativum* var. *arvense*	smooth pea	*endô*
3.	*Phaseolus chrysanthos*	adzuki bean	*azuki*
4.	*P. aureus*	mung	*ryokutô*
5.	*P. vulgaris*	kidney bean	*ingen-mame*
5a.	*P. vulgaris* forma	(kintoki bean)	*kintoki-ingen* (a)
5b.	*P. vulgaris* forma	(nagauzura bean)	*nagauzura-ingen* (a)
6.	*Vigna sesquipedalis*	asparagus bean (b)	*sasage*
6a.	*V. sesquipedalis* forma	—	*zyûroku-sasage* (c)
6b.	*V. sesquipedalis* forma	—	*azuki-sasage* (d)
7.	*Dolichos lablab*	hyacinth bean	*huzimame*
8.	*Canavalia gladiata*	sword bean	*natamame*
9.	*Stizolobium hasjoo*	Yokohama bean	*hassyômame*

Notes : The number of legumes is the same with that described in the previous paper [3], where synonyms are listed.

(a) A garden variety (or form) of *ingen-mame*. (c) A garden variety mainly used as green vegetable.

(b) Cowpea is of the same genus. (d) A garden variety mainly used as dry cereal.

* Presented before the Annual Meeting of Agricultural Chemical Society of Japan on April 9, 1957 at the Faculty of Agriculture, University of Tokyo.

** Faculty of Home Economics, Ochanomizu University, Tokyo.

Methods of Experiments

A. *The intrinsic viscosity* [5]. Potassium hydroxide solution ($1\,N$) was used as the dispersing agent. The flow-time of this solution through an Ostwald viscometer of 10 ml was 56.4, 56.5, 56.2 (av. 56.4) sec in the thermostat of 35° C. Starch solutions in 1 N potassium hydroxide were prepared at the concentrations 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, and 0.5 g/100 ml and the flow-times through the same viscometer were measured. The intrinsic viscosity, $[\eta]$, was calculated graphically by the equations

$$[\eta]=\lim_{c\to 0}(\eta_{sp}/c) \qquad (1)$$

and

$$[\eta]=\lim_{c\to 0}(\ln\eta_r/c), \qquad (2)$$

where c is concentration in g/100 ml, η_r (relative viscosity)$=\eta/\eta_0$, and η_{sp}(specific viscosity) $=(\eta-\eta_0)/\eta_0=\eta_r-1$. η and η_0 are the viscosity coefficients or the flow-times of the solution and solvent, respectively (by neglecting the difference of the specific gravities of dilute solutions).

B. *The alkali lability number*. This is defined as the number of ml of 0.1 N sodium hydroxide solution consumed by 1 g starch by treatment at 100°C for 1 hr. The determination was carried out by the method reported by SCHOCH and JENSEN [7] as described by KOBAYASHI [4] and ÔHASHI [6].

C. *The Brabender amylography*. Three sets of tests were made by a BRABENDER amylograph. (1) In the preliminary test 45 g of air-dry starches was suspended in 455 g of water. Though the true concentrations were not the same, the amylograms were utterly different for different starches. The samples used were the starches prepared from 1. broad bean, 2. smooth pea, 3. adzuki bean, 4. mung, 5. kidney bean, 6. asparagus bean, 7. hyacinth bean, 8. sword bean, and 9. Yokohama bean. (2) The dispersions of 9.0% starches were tested for 1. broad bean, 3. adzuki bean, 5b. nagauzura bean, 6a. zyûroku-sasage, 7. hyacinth bean, and 8. sword bean. (3) Since some amylograms for 9.0% starches could not be obtained completely because of too high viscosities, the dispersions of 6.0% starches were tested. The starches examined were obtained from 1. broad bean, 3. adzuki bean, 4. mung, 5a. kintoki bean, 5b. nagauzura bean, and 6a. zyûroku-sasage.

RESULTS AND DISCUSSION

The intrinsic viscosity was determined to see the average approximate size of the starch molecules. The extrapolation to the concentration zero was easier with the equation (2) (expressed with x) than with the equation (1) (expressed with dots), as shown by Fig. 1, where data are presented for starches from 0. potato, 1. broad bean, and 5b. nagauzura bean as examples. The relative suitability of the equation (2) for calculating intrinsic viscosity[5] was confirmed for all the legume starches examined (graphs for other starches are omitted).

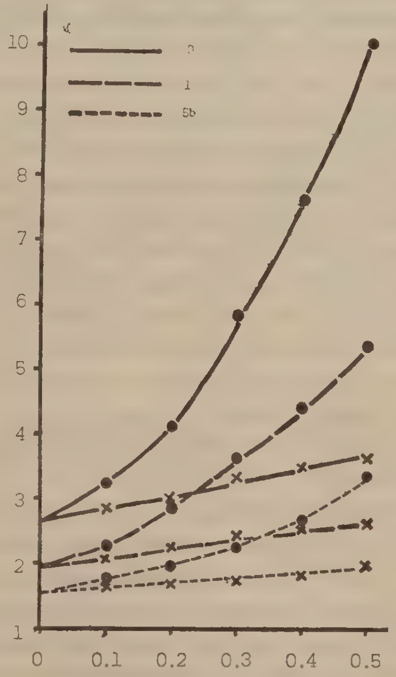


Fig.1. Intrinsic viscosity

Table 2. Intrinsic viscosity and alkali lability number.

No.	Legumes	Intrinsic viscosity		Alkali lability number		
		KAWAMURA	ÔHASHI(6)	KAWAMURA	ÔHASHI(6)	SUZUKI(9)
0.	Potato	2.65	2.58	2.6	5.2	4.5-5
1.	Broad bean	1.94	1.78	5.6	8.8	6.5-7
2.	Pea	—	2.04	—	8.2	6 -7
3.	Adzuki bean	2.00	2.26	6.6	6.4	3.5
4.	Mung	1.88	—	5.0	—	—
5.	Kidney bean	—	1.79	—	10.2	5.5-6
5a.	Kintoki bean	1.71	—	6.2	—	—
5b.	Nagauzura bean	1.60	—	10.0	—	—
6.	Asparagus bean	—	2.15	—	6.2	3 -4
6a.	Zyûroku-sasage	2.11	—	3.8	—	—
6b.	Azuki-sasage	1.77	—	8.8	—	—
7.	Hyacinth bean	1.75	—	11.2	—	—
8.	Sword bean	1.65	—	10.2	—	—

The intrinsic viscosity thus obtained is given in Table 2, where the data for the alkali lability number are also included. Fig.2 shows the relation between intrinsic viscosity and alkali lability number. Though not so strictly, an inverse relationship between these two data can be seen from Fig. 2. In general, legume starches as a group showed lower intrinsic viscosity and higher alkali lability number than potato starch. The legume starches may be regarded as having lower polymerization grade. Comparison of starches of different origin cannot be made only from these two measurements. Comparison of intrinsic viscosities would be more valuable when homologous polymeric compounds are taken as the samples. In this connection, not starches but amyloses (straight-chain molecules) should be examined.

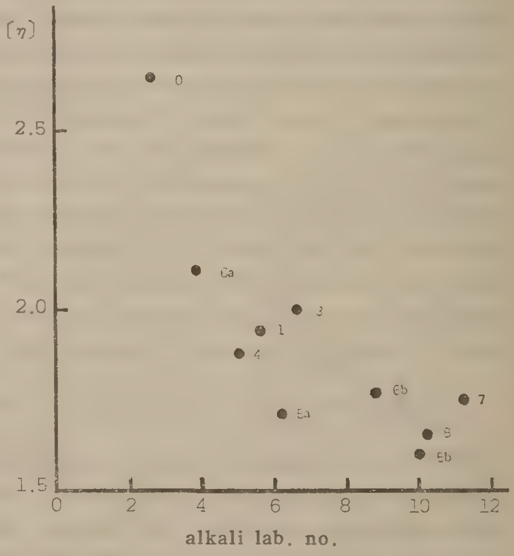


Fig.2. Intrinsic viscosity vs. alkali lability no.

Among legume starches the approximate order is as follows:

(i) the highest in viscosity and the lowest in alkali number... 6a. zyûroku-sasage,

(ii) high in viscosity and low in alkali number...1. broad bean, 3. adzuki bean, and 4. mung,

(iii) low in viscosity and medium to high in alkali number...5a. kintoki bean and 6b. azuki-sasage.

(iv) low in viscosity and the highest in alkali number... 7. hyacinth bean, and

(v) the lowest in viscosity and high in alkali number... 8. sword bean and 5b. nagauzura bean.

In Table 2. values reported by ÔHASHI (6) and by SUZUKI and TAKETOMI (9) are included for some starches. The values for intrinsic viscosity are rather astonishingly agreeing, while the data for alkali lability number are very inconsistent. SUZUKI and TAKETOMI (9) reported that the alkali lability number of starches showed no high reproduciblity.

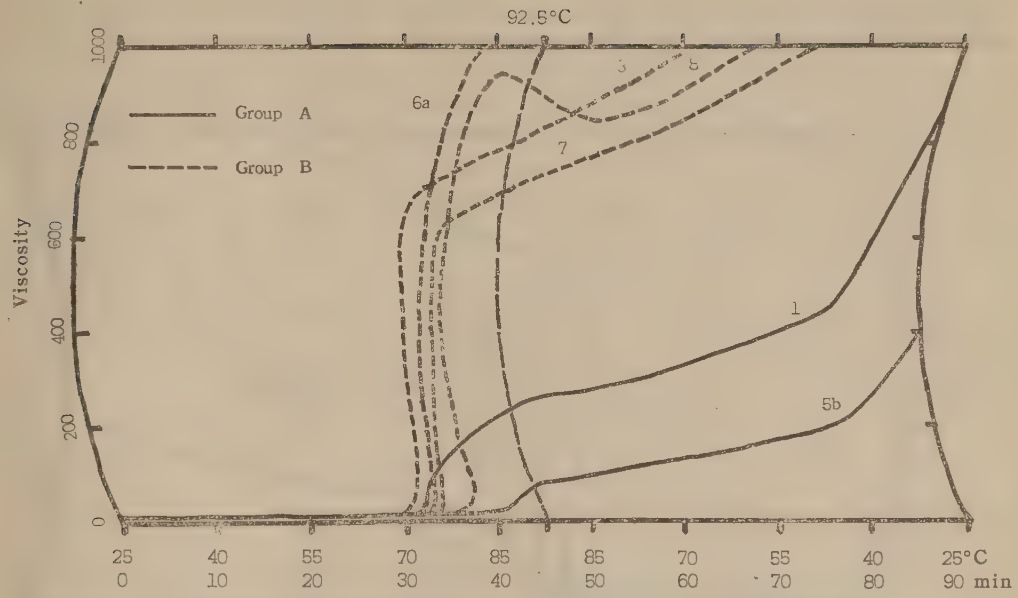


Fig. 3. Brabender amylogram of legume starches at 9.0%

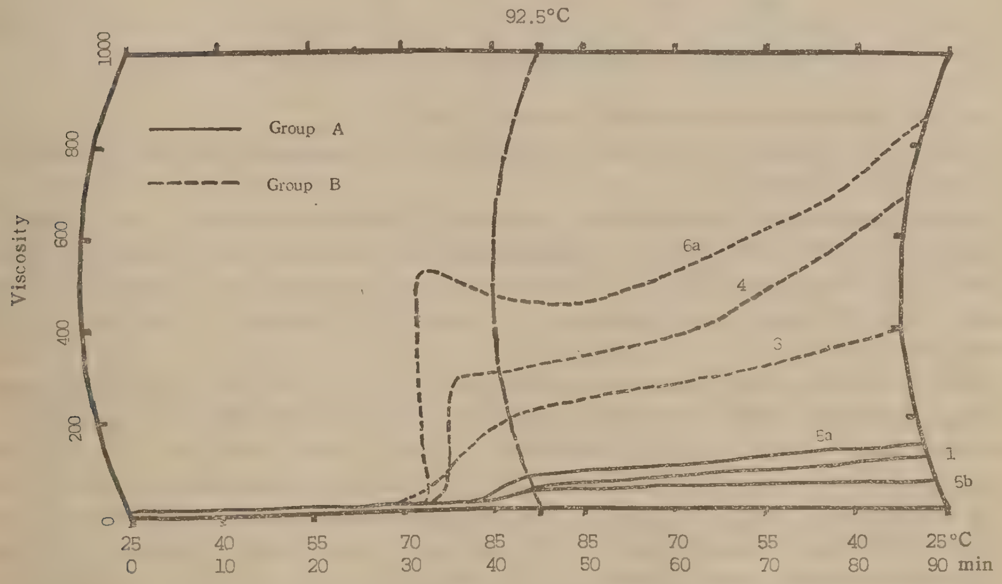


Fig. 4. Brabenaer amylogram of legume starches at 6.0%

SUZUKI and TAKETOMI [9] showed alkali-viscograms of legume starches by the method reported previously [8]. The change of viscosity was continuously recorded by adding caustic alkali to starch dispersions. The authors have not yet applied this method. Instead, the BRABENDER amylograms were obtained. They are heat-viscograms as called by SUZUKI and TAKETOMI [8]

The BRABENDER amylograms are shown in Fig. 3 (9.0%) and Fig. 4 (6.0%). Fig.5 shows the amylograms of adzuki-bean starch at 6.0,7.8, and 9.0%. As in the case of other starches [2], the gelatinization

temperature rised, when the starch concentration was lowered; the viscosity during heating as well as during cooling was lower, when the starch concentration was lowered.

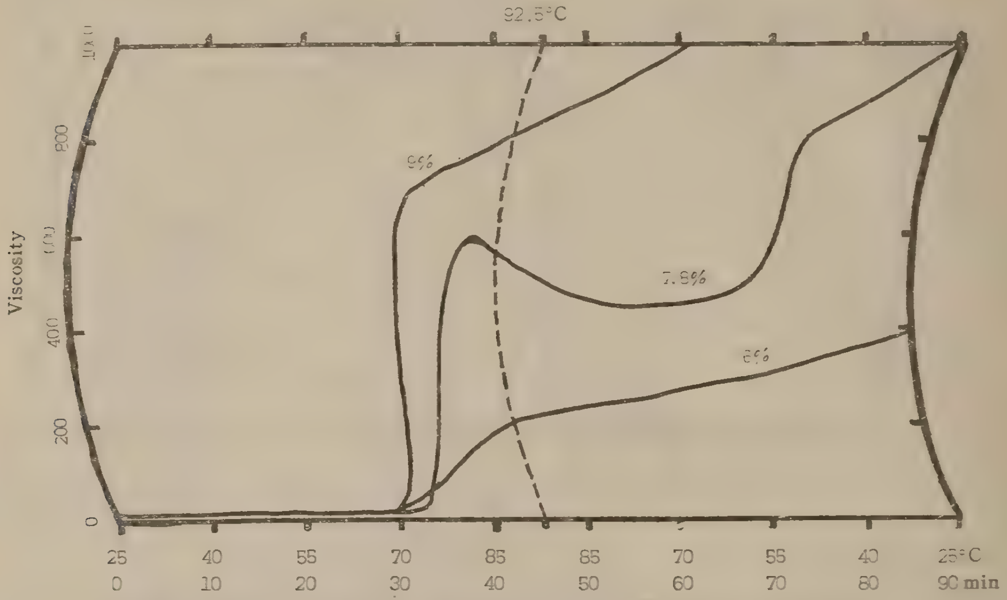


Fig. 5. Brabender amylogram of adzuki-bean starch at 6.0, 7.8, and 9.0%

The characteristic values of amylograms are given in Table 3.

It can be seen from Figs. 3-5 and Table 3 that legume starches may be classified into two groups from the BRABENDER amylograms :

Group A. Legume starches which show no great rise in viscosity during heating (from 25° to 92.5° gradually at the rate of 1.5° per min) and subsequent cooling (from 92.5° to 25° similarly gradually). They all gave steadily rising viscosity, though not remarkably, during the course of heating and subsequent cooling. The legumes giving the starches of this group are 1. broad bean, 2. pea, and 5., 5a., 5b. kidney bean.

Group B. Legume starches which show more or less distinct rise in viscosity by heating and subsequent cooling. The legumes giving the starches of group B are in decreasing order of viscosity 6., 6a. asparagus bean, 9. Yokohama bean, 8. sword bean, 4. mung, 3. adzuki bean, and 7. hyacinth bean. Asparagus bean of zyûroku-sasage variety (No. 6a.) gave the highest viscosity both at 6.0 and 9.0%.

As sated by HOFSTEE and WILLIGEN [(2)], "the shape of the viscogram can be derived primarily from the state of swelling of the starch grain," (p. 26) and "a high peak can be an indication of the ease with which the granules can be disintegrated" (p. 9). Thus legume starches of group A may have ganules which can be disintegrated with more difficulty than those of group B.

Chemical interpretation of the amylograms cannot yet be made, though some investigations are being made on amylose and amylopectin fractions of legume starches. In this connection it may be preliminarily reported that the starches containing about 20% amylose (1. broad bean, 3. adzuki bean, and 4 mung) give lower gelatinization temperatures (70-75° at 9.0% paste), while the other starches presumably containing more amylose (30-50%) (5a. kintoki bean, 5b. nagauzura bean, 7. hyacinth bean, and 8. sword bean) give higher gelatinization temperatures (76-82° at 9.0% paste). (The amylose content is based on

Table 3. Data of amylograms of legume statches—η in BRABENDER unit.

No.	Legumes	Concn. %	Temp. at which the 1st rise in η is recorded	Slope of the curve after the rise in: the 1st min	Slope of the curve after the rise in: the 1st 2 min	During heating: Max. Temp.	During heating: Max. η	During heating: Min Temp.	During heating: Min η	During cooling: Max. Temp.	During cooling: Max. η	During cooling: Min. Temp.	During cooling: Min. η
1.	Broad bean	6.0	73° (?)	3°	3°	92.5	55	—		25	120	—	
		9.0	75	21	42	92.5	205	—		25	670	—	
2.	Pea	6.7	76	25	36	92.5	180	—		25	530	—	
3.	Adzuki bean	6.0	71.5	21	25	92.5	215	—		25	385	—	
		7.9	72.5	14	25	90.5	590	92.5	570	40	1000	82—74.5	450
		9.0	70.5	62	96	92.5	790	—		71.5	1000	—	
4.	Mung	6.0	74.6	31	74	92.5	300	—		25	690	—	
		7.1	73	74	99	79.5	890	92.5	780	62.5	1000	91	770
5.	Kidney bean	4.9	83.5	14	20	92.5	80	—		25	155	—	
5a.	Kintoki bean	6.0	77.5	4	5	92.5	75	—		25	135	—	
5b.	Nagauzura bean	6.0	74.5(?)	1	1	92.5	40	—		25	75	—	
		9.0	79	5	7	92.5	60	—		25	390	—	
6.	Asparagus bean	7.3	77.5	83	99	82	530	92.5	420	25	780	89.5—79	400
6a.	Zyûroku-sasage	6.0	74.5	68	93	79	545	92.5	475	25	830	86.5—80.5	455
		9.0	73	102	91	76.5	1000	—		—		—	
7.	Hyacinth bean	6.5	82	22	35	92.5	200	—		25	660	—	
		9.0	76	36	95	92.5	700	—		68.5	1000	—	
8.	Sword bean	7.4	77.5	45	98	84	620	92.5	560	25	950	86.5—79	530
		9.0	82	102	90	86	930	92.5	870	65.5	1000	88	850
9.	Yokohama bean	6.5	77	61	95	85—86.5	590	92.5	550	25	990	89.5—85	530

experiments chiefly made by Minoru TADA of Faculty of Agriculture, Kagawa University, which will be reported in near future.) These findings have no correlation with the above two groups of legume starches.

YAMASAKI and UEDA[11] found that the amylase of black aspergilli could saccharify raw (uncooked) starches from cereals more easily than raw starches from tubers. UEDA suspected that the difference might be attributable to the difference of the shape of the amylograms: cereal starches give amylograms similar to those of the group A legume starches and tuber starches to those of the group B legume starches. Thus UEDA[10] examined legume starches prepared by KAWAMURA to find possible relationship between the two groups of legume starches in connection with the ease of black-aspergilli amylase on raw starches. The result shown in Fig. 6 indicates that there could be found no such relationship.

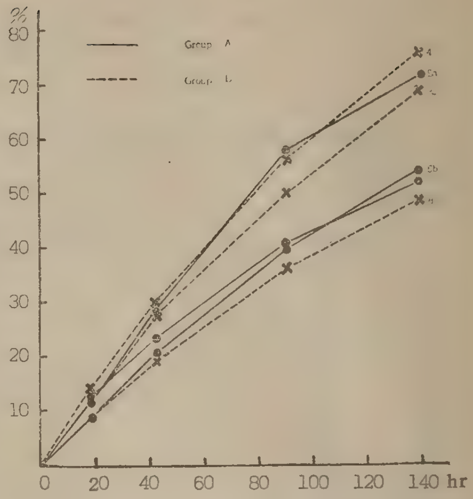


Fig. 6. Saccharification of legume starches by black-aspergilli amylase.[10]

ACKNOWLEDGMENT

Sincere thanks are due to Dr. Ziro NIKUNI of Osaka University, who is the head of the coöperative research group of fundamental studies on the utilization of starches, sponsored by the Ministry of Education. Some experiments were made by Mr. Minoru TADA and Mr. Kazuyuki KAGAWA of Faculty of Agriculture, Kagawa University. The authors are grateful to their assistance. The authors wish to exprss thankfulness also to Mr. Seinosuke UEDA, who furnished them valuable data given in Fig. 6.

REFERENCES

(1) FUKUBA, H. (福場博保): On the BRABENDER amylograph-viscograph. *Bunseki Kagaku* (Japan Analyt). **4** (6), 406 (1955).

(2) HOFSTEE. J., WILLIGEN, A. H. A. de: Starch. Foodstuff, Their Plasticity, Fluidity, and Consistency (ed. SCOTT BLAIR, G.W.), 1-34, Amsterdam, North-Holland Publishing Company (1953).

(3) KAWAMURA, S. (川村信一郎), TUBOI, Y. (壺井好), HUZII, T. (藤井保): Studies on legume starches. I. Microscopic observation on the granules of starches from some Japanese legumes. *Tech. Bull. Kagawa Agr. Coll.*, **7** (1), 87 (1955) (in English).

(4) KOBAYASHI, T. (小林恒夫): Denpun Kagaku (Starch Chemistry) (ed. Z. Nikuni (二国二郎)), 361, Tokyo, Asakura Syoten (1951).

(5) KUROIWA, T. (黒岩章晃), WADA, E. (和田英一): Nendo (Viscosity), Zikken Kagaku Kôza (Lectures on Experimental Chemistry), **8**, 123-76, Tokyo, Maruzen (1956).

(6) ÔHASHI, K. (大橋一二), *Research Bull. Fac. Agr., Gifu Univ.*, (6), 107 (1956) (in Japanese).

(7) SCHOCH, T. J., JENSEN, C. C.: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **12**, 531 (1940).

(8) SUZUKI, H. (鈴木晴男), TAKETOMI, N. (武富 昇): Amylo-alkali-viscograph by a synchronous-motor type rotating cylinder viscometer. Effects of caustic alkali upon the swelling and gelatinization of various starch granules. *Kôgyô Kagaku Zassi* (J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Sect.), **59**, 45 (1956) (in Japanese).

(9) ———, ——— : Physico-chemical properties of starches from some Japanese legumes. Presented before the Fall Meeting of Chem. Soc. Japan and allied societies at Waseda Univ., Tokyo, on November 4, 1956.

(10) UEDA, S. (上田誠之助): private communication. March 8, 1957.

(11) YAMASAKI, I. (山崎何恵), UEDA, S. : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 48 (1955) (in English).

豆類の澱粉の研究

II 粘　　度

川村信一郎, 福場博保*

前報[3]に記したようにしてつくつた豆類の澱粉につき極限粘度[5]とアルカリ数[4,6,7]を求め，また BRABENDER のアミログラム[1,2]を求めた．用いた豆類の名称を第1表に示した．

極限粘度を求めるには式（*1*）よりも式（*2*)の方が都合がよい（第1図）．極限粘度とアルカリ数とは大体逆の関係にある（第2図）．ジヤガイモ澱粉に比べて豆類の澱粉は極限粘度が低く，アルカリ数が大きい．

鈴木，武富[8,9]はアルカリヴイスコグラムを求めたが，ヒートヴイスコグラムの一種である BRABENDER のアミログラムは第3—5図のようであつた．アミログラムの形は第一に澱粉粒の膨潤の状態により定まり，粘度が高く出るということは澱粉粒が崩壊し易いことを示す[2]．化学的性質との関係については研究をつづけているが，糊化温度が低いものはアミロースが20%内外のもの（1.ソラマメ，3. アズキ，4. リヨクトウ）であり，アミロースが多くて30—50%と考えられるもの（5a. キントキインゲン，5b. ナガウズラインゲン，7. フジマメ，8. ナタマメ）は糊化温度が高い．

アミログラムから豆類澱粉を2群に分けることができる．

A群 : 25°から92.5°まで1分につき1.5°の割合で加熱して，次に92.5°から25°まで同様に冷却しても粘度がわずかずつ増加するに過ぎないもの（澱粉粒が非常にくずれにくいもの)………1. ソラマメ，2. エンドウ，5，5a，5b. インゲンマメ．

B群 : 加熱によりある温度（糊化温度）で粘度が急に上昇し，この高粘度が次の加熱冷却の間維持されるもの（粘度の大きいものから並べる)………6，6a. 十六サヽゲ，9. ハツシヨウマメ，8. ナタマメ，4. リヨクトウ，3. アズキ，7. フジマメ．

上田[10]は黒麹アミラーゼによる生澱粉糖化作用がA群とB群とにより差があるのではないかと考え実験したが，明らかな差は得られなかつた（第6図)．

ともかく豆類澱粉のアミログラムが A，Bの2群に大別されることは興味あることであろう．

この研究の経費の一部は文部省総合研究費（澱粉の利用に関する基礎的研究）により支払われた．代表者の大阪大学二国二郎教授に感謝する．また実験については香川大学農学部多田稔助手および専攻生香川和幸君の助力を得た．九州大学農学部上田誠之助氏は貴重な実験結果を提供された．以上の諸氏に深謝の意を表する．

要旨は1957年4月9日東京大学農学部における日本農芸化学会大会で発表した．

*お茶の水女子大学家政学部

昭和32年7月25日印刷
昭和32年7月31日発行

香川県木田郡三木町
香 川 大 学 農 学 部

高松市中央通り
印刷者　鉄 野 源 太 郎

高松市中央通り
印刷所　香川印刷株式会社

Volume 9, No. 1 (Serial No. 24) July, 1957

TECHNICAL BULLETIN OF FACULTY OF AGRICULTURE, KAGAWA UNIVERSITY

(Formerly Technical Bulletin of Kagawa Agricultural College)

CONTENTS

UEKI, Kunikazu : The varietal difference in the response of flowering and fruiting to the night temperature in broad bean. III. Influence of high night temperature on the growth and fruiting. 1

KIRA, Hachiro : Studies on the sedimentation in irrigational reservoirs. V. On the density current in reservoirs. (1) 11

NAITO, Nakato, KOJIMA, Yoshiyuki : Fungistatic substance production by *Gloeosporium olivarum* which was grown on media containing either 2-chlorophenoxyacetic acid or 2-methylphenoxyacetic acid. 18

HOSHIKAWA, Genji : Application of chelating agents to soil and fertilizer analysis. I. Volumetric determination of phosphate in calcium superphosphate with EDTA. 26

KAWAMURA, Sin'itirô, FUKUBA, Hiroyasu : Studies on legume starches. II. Viscosity behaviors. (in English) 38

FACULTY OF AGRICULTURE,
KAGAWA UNIVERSITY
Mikityô, Kagawa-ken, Japan